GEWINNUNG UND CHARAKTERISIERUNG VON MUTANTEN MIT VERÄNDERTER PHOTOTAKTISCHER REAKTION AUF MONOCHROMATISCHES LICHT BEI DROSOPHILA MELANOGASTER

Fritz GERRESHEIM

1981

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 26 81 77

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547022_0019

Gewinnung und Charakterisierung von Mutanten mit veränderter phototaktischer Reaktion auf monochromatisches Licht bei Drosophila melanogaster

Dissertation der Fakultät für Biologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von Fritz Gerresheim
aus Schneidemühl

Mai 1981

1. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Autrum

2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Cleve

Sondergutachten: Prof. Dr. H. J. Becker

Tag der mündlichen Prüfung: 5.8.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis

Vorbemerkung 1

Teil I : Die Gewinnung von Mutanten 2

1) Einleitung 2

2) Material und Methoden: Verfahren zur Gewinnung von Mutanten mit veränderter UV-Blau-Reaktion 4

a) Versuchsapparatur 4

b) Versuchstiere 16

α) Züchtung geeigneter Versuchstiere 16

β) Haltung der Versuchstiere 23

c) Durchführung der Versuche im Phototaxisapparat 25

α) Allgemeine Versuchsbedingungen 25

β) Schritte zur Gewinnung von Mutanten 32

1. Isolierung (Auslese) abnormer F_1-Männchen 32

2. Identifizierung abnormer Stämme 36

3) Ergebnisse 37

a) Ergebnisse der Versuche mit der ersten Nachkommenschaft (F_1) 37

b) Ergebnisse der Versuche mit Nachkommenschaften isolierter F_1-Männchen 41

α) Elimination der Stämme ohne deutliche Veränderung des Verhaltens im UV-Blau-Test 44

β) Identifizierung von Stämmen mit verändertem Verhalten im UV-Blau-Test 49

γ) Kreuzungen mit dem Kontrollstamm 55

4) Diskussion 61

a) Überlegungen zur Zusammensetzung der ersten Nachkommenschaft vor der Auslese im Phototaxisversuch 61

b) Überlegungen zur Wirksamkeit der Auslese im Phototaxisversuch 72

c) Überlegungen zur Häufigkeit der durch die Auslese im Phototaxisversuch zu Tage geförderten relevanten genetischen Faktoren 84

Teil II : Versuche einer Charakterisierung von Mutanten mit veränderter UV-Blau-Reaktion 96

1) Vorbemerkungen 96

2) Versuche zur genetischen Charakterisierung 97

3) Beobachtungen zur anatomischen Charakterisierung 108

Zusammenfassung 129

Abschließende Diskussion 133

Literaturverzeichnis 140

Lebenslauf 143

Verzeichnis der Abbildungen, Tabellen und Erläuterungen

Abbildungen

1	Seite	5
2	"	9
3	"	11
4a/b	"	18
5	"	35
6	"	43
7A/B	"	77b
7C/D	"	77c
8a/b	"	82c
9	"	85
10	"	92
11	"	99
12	"	99
13a/b	"	100
14	"	102
15	"	107
16a-c	"	110
17a/b	"	112
18	"	114
19a-c	"	115a-c
20	"	117
21	"	118
22	"	121
23	"	122
24	"	125
25a-c	"	127
26	"	135

Tabellen

1a/b	Seite	22
2	"	27a
3	"	28
4	"	38
5	"	42
6	"	45
7a/b	"	47
8	"	48
9a	"	50a
c,	"	50b
10	"	56
11	"	60
12a	"	64
12b	"	68a
13	"	66a
14	"	71
15	"	75
16	"	82b
17a	"	88
17b	"	89b
18	"	103b
19	"	120a
20	"	124

Erläuterungen

1	Seite	14a-d
2	"	66b-c
3	"	74a-e
4	"	80

Vorbemerkung

Auf dem sonst nicht sehr scharf umrissenen, interdisziplinären Forschungsgebiet der Verhaltensgenetik hat seit Mitte der sechziger Jahre eine Arbeitsrichtung zunehmend an Profil gewonnen, die sich weniger für die natürliche, genetisch bedingte Variabilität von Verhaltensweisen, für deren Erbe-Umwelt-Beziehungen oder Evolution interessiert, sondern im Laboratorium erzeugte Mutanten dazu benutzt, Entwicklung, Aufbau und Funktion neurobiologischer Systeme experimentell zu analysieren. Methoden und Ziele dieses Ansatzes sind von Seymour Benzer (1967) als erstem deutlich formuliert worden. Seine Idee bestand darin, bei einem geeigneten Versuchstier mittlerer Organisationshöhe systematisch und möglichst umfassend Mutanten mit veränderten Verhaltenseigenschaften zu isolieren und dann sozusagen als Indikatoren genetisch kontrollierter verhaltensphysiologischer Defekte zu verwenden: ein alle nur erdenklichen Methoden einschließender Vergleich der Mutanten mit dem Wildtyp sollte - letztlich bis auf molekulares Niveau hinab - eine auf lange Sicht wachsende Anzahl der normalem Verhalten zugrunde liegenden sensorischen, neuralen und motorischen Elemente experimentell zugänglich machen.

Benzer hatte zu seinem Versuchsobjekt die Taufliege Drosophila melanogaster gewählt, die sich nicht nur als genetisch gut erforschter Organismus besonders anbot, sondern - im Interesse des neu anvisierten Zieles - ein nicht zu geringes Repertoire an ethologischen Leistungen mit nicht zu großer neuraler Komplexität zu verbinden schien. Seitdem ist die genetische Erschließung der verschiedenartigsten Verhaltensweisen von Drosophila zum Gegenstand zahlreicher Bemühungen geworden (Hall und Greenspan, 1979). Die vorliegende Arbeit versucht, hierzu etwas beizutragen. Sie befaßt sich mit bestimmten Aspekten einer den meisten Insekten eigenen, zum Licht hinführenden Orientierungsreaktion, die als positive Phototaxis bezeichnet wird. Der Absicht entsprechend, Mutanten mit veränderter phototaktischer Reaktion erst einmal zu finden und anschließend in ihren Besonderheiten näher zu

untersuchen, gliedert sich die Arbeit in zwei relativ selbständige Teile: der erste Teil beschreibt und diskutiert das Verfahren, welches zur Gewinnung des erwünschten Typs von Verhaltensmutanten angewendet wurde, und gibt einen Überblick über die damit erhaltenen Ergebnisse, der zweite Teil berichtet dann über erste Versuche einer Charakterisierung der gefundenen Anomalien.

Teil I: Die Gewinnung von Mutanten

1) Einleitung

Nach Drosophilamutanten mit verändertem visuellen Verhalten wird seit einer Reihe von Jahren besonders erfolgreich gesucht, und zwar in den Laboratorien von Benzer[1], Pak[2] und Merriam[3] nach Mutanten mit anormaler Phototaxis, von Heisenberg[4] nach Fliegen mit abnormer optomotorischer Reaktion. Die Verfahren zur Isolierung von Phototaxismutanten sind dabei bisher, soweit durch Veröffentlichungen bekannt, auf die Verwendung von Apparaturen beschränkt geblieben, in denen man Fliegen vor die Wahl stellt, entweder zu einem weißen Versuchslicht hinzulaufen - die normale spontane Reaktion - oder eben nicht; phototaktisch abnorme Individuen können so an ihrer fehlenden oder zumindest deutlich verminderten Reaktion erkannt und verhältnismäßig leicht von der Masse der normalen Tiere abgetrennt werden.
Verene Wulf (1974) hat unter der Anleitung von Professor Becker und Professor Autrum eine andere Methode ausgearbeitet, die phototaktische Spontanreaktion zur Isolierung von Verhaltensmutanten zu benutzen. In einer besonderen Apparatur, die ich später genauer beschreiben werde, hat sie die Fliegen zwischen zwei monochromatischen Lichtern verschie-

1: Benzer (1967); Hotta und Benzer (1970)
2: Pak, Grossfield, White (1969); Pak (1975)
3: Koenig und Merriam (1977)
4: Heisenberg (1971, 1974); Heisenberg und Goetz (1975)

dener Wellenlänge, einer UV(368nm)- und einem Blau(481nm)-Licht wählen lassen und dabei Tiere mit verminderter oder fehlender UV-Reaktion - das sind unter den verwendeten Intensitätsverhältnissen solche, die, vom normalen Verhalten abweichend, das blaue Versuchslicht bevorzugen - zu finden gehofft. Mit diesem Verfahren konnte Frau Wulf aus 2300 Versuchstieren, männlichen Nachkommen mit einem Mutagen behandelter Fliegen, eine einzige Mutante isolieren, die als Stamm (E_{III}) mehrere Jahre bestanden hat. Die Mutante trug eine Mutation auf dem X-Chromosom, hatte eine unregelmäßig fazettierte ("rauhe") Augenoberfläche und zeichnete sich sowohl gegenüber blauem wie ultraviolettem Licht durch eine Verringerung der phototaktischen Reaktion aus; in der Wahl zwischen beiden Lichtern, also unter den Bedingungen ihrer Entdeckung, zeigte die Mutante eine nur geringe Bevorzugung von UV-Licht, ein Verhalten, das von dem des Wildtyps zwar nicht qualitativ, quantitativ aber doch deutlich abweicht.

Diese Untersuchungen V. Wulfs waren als Beiträge zum Studium des Farbensehens bei Fliegen gedacht gewesen. Wenn - so war damals die Idee von Prof. Becker - den beiden Bereichen maximaler spektraler Empfindlichkeit der Fliege (Blau um 480nm und UV um 360nm) zwei Rezeptortypen, jeweils mit nachgeschalteten neuralen Systemen, entsprechen, dann könnten durch genetisch bedingte Veränderungen in einem der beiden Systeme Mutanten entstehen, deren positiv phototaktische Reaktion zwar an sich normal, aber in ihrer spektralen Empfindlichkeit gestört ist. Die Analyse solcher Mutanten könnte, analog zu den Vorstellungen von S. Benzer, zum Verständnis der anatomischen und physiologischen Grundlagen des Farbensehens von Drosophila beitragen.

Die Ergebnisse von V. Wulf zeigen, daß die von ihr verwendete Methode grundsätzlich geeignet ist, Fliegen mit unterschiedlicher Reaktion auf monochromatisches Licht zu unterscheiden und voneinander abzutrennen. Allerdings hätte man natürlich gern Mutanten mit etwas anderen Eigenschaften gefunden als sie, mit normaler Fazettenstruktur und unverändert starker Phototaxis, mit erheblicher Störung der UV-Reaktion bei un-

geschwächter Reaktion auf Blau-Licht. Aus diesem Grund habe ich Frau Wulfs Bemühungen fortgesetzt, mit demselben Ziel und, im wesentlichen, denselben Mitteln. Darüber möchte ich im folgenden berichten.

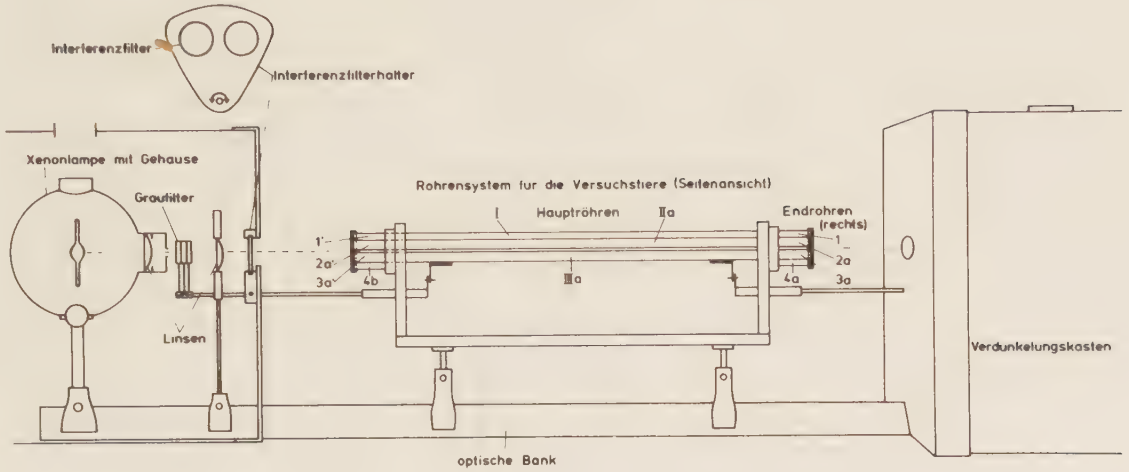
2) Material und Methoden: Verfahren zur Gewinnung von Mutanten mit veränderter UV-Blau-Reaktion

a) Versuchsapparatur

Als erstes muß ich die Apparatur beschreiben, welche auch mir zur Gewinnung von Mutanten mit verminderter Reaktion auf UV-Licht gedient hat. Dieses Gerät ist in der Werkstatt des Zoologischen Instituts, insbesondere von Herrn Weber, entworfen und gebaut worden, und zwar in Anlehnung an den von Götz (1970) zur Untersuchung von Unterschieden im optomotorischen Verhalten bei Drosophila benutzten Apparat. Es ähnelt damit dem Phototaxis-Automaten von Heisenberg (Heisenberg, 1972; Heisenberg und Götz, 1975), der ebenfalls auf die Götz'sche Apparatur zurückgeht. Während Heisenberg aber in seiner Vorrichtung anscheinend nur die Reaktion auf weißes Licht bestimmt hat, können in der hier beschriebenen auch monochromatische Reizlichter verwendet werden. Ich will dieses Gerät, da ja alles seinen Namen haben muß, als "Wulf'schen Phototaxisapparat" bezeichnen.
Aufbau (vergl. Abb. 1) und Arbeitsweise desselben sind folgende:
Die Versuchsapparatur im engeren Sinne - das heißt der Ort, an dem die Fliegen ihre Lichtreaktionen zeigen sollen - besteht in der Ruhestellung aus einem System konzentrisch um eine gemeinsame Längsachse angeordneter, unverbundener, an den Enden durch ablösbare Kappen verschlossener Röhren. Fünf von diesen setzen sich aus jeweils drei dicht aneinanderschließenden, aber getrennten Teilen zusammen, nämlich einem mittleren Hauptabschnitt (den Hauptröhren I, II a und III a der Abbildung 1 sowie den dort verdeckten symmetrischen Teilen II b und III b) und zwei kürzeren Endabschnitten (den Endröhren der linken und rechten Seite, mit arabischer

Abbildung 1

Versuchsapparatur in halbschematischer Seitenansicht



Maßstab 1 : 6,7

Antriebsmotor und Drehmechanik sind nicht eingezeichnet.

Numerierung versehen); zwei weitere kürzere Elemente (4a und 4b), eines auf jeder Seite, treten noch als Endröhren symmetrisch zu den übrigen hinzu, sind aber zur Mitte hin blind geschlossen, da eine sie verbindende sechste Hauptröhre fehlt. Alle genannten Teile bestehen aus UV-durchlässigem Plexiglas, das an den Verschlußkappen, um Lichtstreuung zu bewirken, aufgerauht ist.
Während nun die Hauptröhren fest in das Traggestell der Apparatur eingefügt sind, stecken die Endröhren jeder Seite in einer Scheibe, welche um die Längsachse des Gesamtsystems gedreht werden kann, wobei Haupt- und Endröhren, gegeneinander verschoben, wechselnde Verbindungen eingehen. Diese Drehung erfolgt, wenn die Phototaxismaschine "arbeitet", automatisch durch einen Motor, dessen Bewegung mechanisch so übertragen wird, daß die Endröhren beider Seiten in regelmäßigen, durch eine Zeitgeberuhr festgelegten Intervallen um jedesmal eine Position (also 60°) hin- und beim nächsten Impuls der Uhr wieder zurückgeschaukelt werden, und zwar an beiden Enden gleichzeitig, doch in entgegengesetzter Richtung. Infolgedessen treten die Endröhren abwechselnd mit je zwei benachbarten Hauptröhren in Verbindung - ausgenommen die Elemente 4a und 4b, welche nur mit einer einzigen Hauptröhre Kontakt aufnehmen können - ; doch haben dabei zwei gegenüberliegende Endröhren der rechten und linken Seite immer nur eine einzige Hauptröhre gemeinsam und teilen sich je eine weitere mit einer anderen, um eine Position verschobenen Endröhre. So bildet denn die Versuchsapparatur kein starres System streng abgegrenzter Teile, sondern, in zwei Zuständen hin und her pendelnd, ein Netz wechselnder - geknüpfter und gelöster - Verbindungen, in dem jedes Element - direkt oder indirekt - mit jedem anderen in Beziehung treten kann.
Wie die Abbildung 1 andeutet, ist das beschriebene Röhrensystem fest auf eine optische Bank montiert, entlang der auch die Hilfsmittel zur Beleuchtung der Versuchsröhren mit Reizlichtern aufgebaut sind. Diese optische Einrichtung besteht, auf beiden Seiten des Geräts gleichartig, aus je

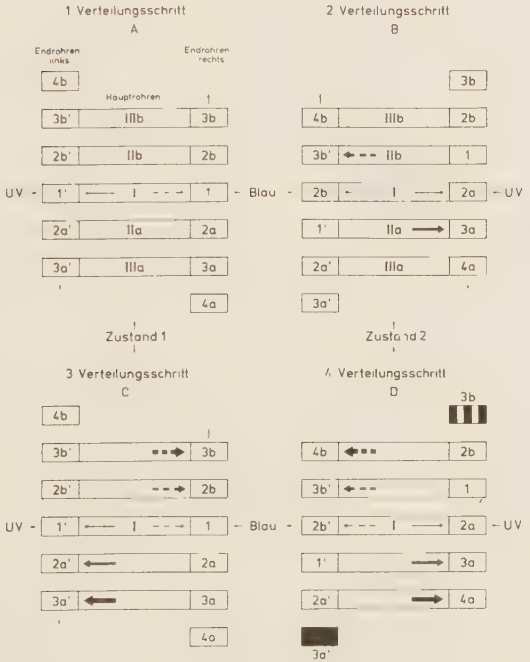
einer Lichtquelle (150 Watt Xenon-Hochdrucklampe, XBO 150 W/1 der Firma Osram, mit Gehäuse der Firma Zeiss, an dem das Licht durch eine Öffnung mit Quarz-Kondensorlinse austritt), einer Reihe auswechselbarer Graufilter (Zeiss), um die Lichtintensität variieren zu können, einer Quarzlinse, einem Halter mit Interferenz-Linienfiltern (Firma Schott, Ø 5cm) und schließlich einer Blende. Die Strahlengänge der gesamten Optik liegen in der Längsachse des Versuchsröhrensystems, welches also an beiden Seiten gleichmäßig beleuchtet werden kann, und zwar, infolge der Justierung der Linsen, so, daß der Kegel des leider nicht ganz parallelen Lichts das kreisförmige Feld, in dem die Verschlüsse der Endröhren liegen, gerade voll ausleuchtet. Alle genannten Teile des optischen Systems jeder Seite sind von einem innen und außen schwarz beklebten Pappkasten umschlossen, den wirklich nur das Versuchslicht an einer zugleich die Blende des Strahlengangs bildenden kreisrunden Öffnung verläßt.
Von großer Bedeutung für die Funktion des Phototaxisapparats ist die Beschaffenheit und Bewegungsweise der Interferenzfilterhalter. Beide Halter können je zwei Filter tragen, eines (z.B. für "UV") neben dem anderen (z.B. für "Blau") in einer Ebene senkrecht zum Strahlengang. (Wenn man die Interferenzfilter entfernt, lassen sich natürlich auch Versuche mit weißem Licht durchführen). Außerdem sind die Halter an den Mechanismus angeschlossen, der die Endröhren automatisch hin und her schaukeln läßt, nämlich folgendermaßen: in demselben Takt und in derselben Richtung wie die Endröhren der jeweils selben Seite klappen auch die Interferenzfilterhalter gegensinnig hin und her, dabei einmal das eine, dann das andere Filter in den Strahlengang rückend. Im UV-gegen-Blau-Versuch, bei Gegenüberstellung der Interferenzfilter "UV" (368nm) und "Blau" (481nm), werden also die Röhrenenden des Apparats in periodischem Wechsel verschiedenfarbig beleuchtet, d.h. den Fliegen im Röhrensystem erscheinen UV- und Blau-Licht aus entgegengesetzten, im Takt mit der Pendelbewegung der Endröhren wechselnden Richtungen.

Was ist aber nun die experimentelle Funktion des solchermaßen konstruierten Apparats? Die Fliegen, von denen vor Beginn eines Versuchs eine nicht zu kleine Anzahl in die obere, mittlere Röhre (I) befördert werden, sollen zwischen zwei, aus entgegengesetzten Richtungen eingestrahlten Reizlichtern, UV- und Blau-Licht, wählen. Unter geeigneten Bedingungen führt sie dabei ihre positiv phototaktische Reaktion in meist kurzer Zeit in eine der beiden seitlichen Endröhren. Dies ist für die einzelne Fliege das Ergebnis einer Alternativentscheidung; deren Summierung in einem Versuch mit einer Gruppe von Fliegen liefert eine Verteilung von Individuen auf die Endröhren der beiden Seiten, welche die mittlere phototaktische Wirksamkeit (Attraktivität) der Reizlichter quantitativ wiederspiegelt. Der Apparat dient also zunächst der Auslösung einer gut beobachtbaren und quantifizierbaren phototaktischen Gruppenreaktion auf eine einzelne Reizalternative zwischen Lichtern verschiedener Wellenlänge unter definierten Bedingungen. Darüber hinaus ermöglicht das Gerät - dank seines auf den ersten Blick etwas kompliziert erscheinenden Bewegungsmechanismus - eine Vervielfachung des gerade beschriebenen Verteilungsvorgangs in automatisch hintereinandergeschalteten, prinzipiell gleichartig ablaufenden Schritten, die zu einer zunehmend differenzierteren Gesamtverteilung führen. Wie geht das im einzelnen vor sich? Man betrachte dazu vielleicht die Abbildung 2, welche in schematischer Form die Rohren des Apparats in vier aufeinanderfolgenden Verteilungsschritten zeigt, von oben gesehen und in die Papierebene projiziert.
Die Fliegen in der Ausgangsröhre I laufen doch, wie oben schon gesagt, sobald die Versuchslichter eingeschaltet werden, zu den angeleuchteten Stirnseiten des Apparats (Abb. A). Wenn man jetzt den Umschaltmechanismus in Gang setzt, so läßt dieser die Endröhren (1 bzw. 1') in welchen die Versuchstiere sich drängen, mit je einer neuen Hauptröhre (IIa und IIb) in Verbindung treten, auf diese Weise die Ausgangsgruppe in drei Teilgruppen spaltend: eine Gruppe von Fliegen ohne erkennbare oder wirksame Reaktion bleibt in I

Abbildung 2

Verteilungsablauf in der Wulf'schen Phototaxisapparatur

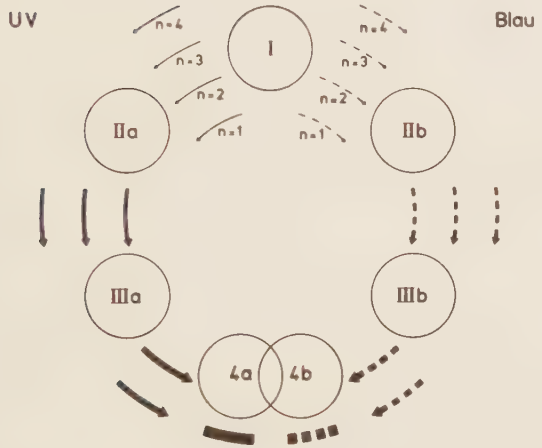
(4 Schritte)



Das Röhrensystem der Abb. 1 ist in der Ansicht von oben, dabei in die Papierebene projiziert, schematisch dargestellt. Die Pfeile geben die Richtung der Lichtreaktion an, und zwar führen gestrichelte Pfeile zum blauen, durchgezogene zum ultravioletten Licht; je dicker der Pfeil umso größer die Zahl der bereits vorangegangenen gleichartigen Reaktionen. Das Schema gibt im übrigen nur die Hauptbewegungsrichtung von Fliegen mit starker Tendenz nach UV bzw. nach Blau an; es läßt unberücksichtigt, daß die Reaktion in jedem Schritt und in jeder Röhre natürlich immer nach beiden Seiten erfolgt.

zurück, während die beiden anderen aufgrund ihrer Hinwendung zum UV- bzw. Blau-Licht durch die Endröhren nach IIa bzw. nach IIb befördert worden sind (Abb. B). Das Ergebnis des ersten Verteilungsschritts ist somit durch eine räumliche Trennung der Fliegen verschiedener Reaktionstendenz fixiert und könnte jetzt bequem ausgezählt werden. Statt dessen schließt sich unmittelbar an den ersten Schritt der zweite an (Abb. B). Dieser vollzieht sich nun nicht mehr nur in einer, sondern in drei Röhren gleichzeitig; außerdem haben die Versuchslichter ihre Plätze gewechselt, so daß alle Fliegen, welche im zweiten Verteilungsschritt die gleiche Lichtreaktion zeigen wie im ersten - Fliegen mit anderen Reaktionen sollen hier der Einfachheit halber unbeachtet bleiben -, jetzt in entgegengesetzter Richtung laufen wie vorher (also nach 3a bzw. 3b'). Was geschieht mit solchen Tieren, wenn die Endröhren wieder in die Ausgangslage (Zustand 1) zurückkehren und der dritte Schritt (Abb. C) beginnt. Sie werden nicht etwa, der Pendelbewegung, die sie nach II gebracht hat, folgend, in die Ausgangsröhre zurücktransportiert, sondern gelangen aufgrund ihres Seitenwechsels in die Röhren IIIa und IIIb. Damit ist, ohne daß man noch weiteren Schritten nachgehen muß, das Verteilungsprinzip der Phototaxismaschine bereits demonstriert: Ihr Mechanismus, in welchem der Wechsel der Versuchslichter und der Wechsel der auf beiden Seiten gegensinnig pendelnden Endröhren aneinandergekoppelt sind, treibt Fliegen mit überwiegender Tendenz zu einem der Lichter, von einer Seite des Apparats zur anderen, in Endröhren hinein, die in bestimmter, stets oder doch vorherrschend gleicher Richtung ausschlagen, und befördert sie deshalb schrittweise - je größer die Tendenz, umso vollständiger und schneller - von der Ausgangsröhre weg in Elemente zunehmenden Verzweigungsgrades (I→4) entweder der einen oder anderen Hälfte des Röhrensystems (vergl. auch die Abb. 3). Versuchstiere mit verschiedener, zu entgegengesetzten Lichtern gerichteter phototaktischer Tendenz werden infolgedessen mit jedem Verteilungsschritt mehr voneinander getrennt. Allerdings erreicht dieser Effekt

Abbildung 3
Verteilungsablauf in vier Schritten



Das Röhrensystem ist im Querschnitt dargestellt, wobei die Nebenröhren 4a und 4b in dieselbe Ebene gerückt sind. Die Hauptbewegungsrichtungen von Versuchstieren mit überwiegender Blau- bzw. UV-Tendenz werden auf vier Kreisen, welche die vier ersten Verteilungsschritte (n) darstellen, durch Pfeile - wie in der Abbildung 2 - angedeutet.

ziemlich bald seine Grenze: wenn die Fliegen in 4a oder 4b angekommen sind, ist ein Weitertransport nicht mehr möglich, und die Tiere müssen, falls sie ihre Reaktion nicht ändern, dort bis zum Ende des Versuchs verharren.
Die beschriebene Phototaxismaschine ist also gewissermaßen ein Verteilungsapparat für Gruppen von Drosophila-Fliegen, in welchem die Versuchstiere in automatisch hintereinandergeschalteten Schritten vor die stets gleiche Entscheidung zwischen zwei Versuchslichtern gestellt werden und Art und Stärke der daraus resultierenden, zusammengesetzten Reaktion - als Ausdruck der mittleren relativen phototaktischen Wirksamkeit der Reizlichter - sich aufgrund der Verteilung der Fliegen auf die Röhrenelemente der Apparatur erschließen läßt. Qualitativ, seiner Art nach, ist dieser Zusammenhang zwischen Reaktion und Verteilung, wie oben dargelegt, dadurch gegeben, daß Fliegen, die eines der Lichter bevorzugen, in die Röhrenelemente der zugeordneten Hälfte der Apparatur transportiert werden (Abb. 3). Das Ausmaß solcher Verschiebung und damit die Stärke der Reaktionstendenz läßt sich quantitativ durch folgenden Quotienten bewerten:

$Q = \frac{N_{UV} - N_{Bl}}{N_{UV} + N_{Bl}}$. Darin bezeichnen die Symbole N_{UV} und N_{Bl} die Anzahl der Tiere, welche in einer gegebenen Zahl von Verteilungsschritten eines Versuchs mindestens einmal mehr durch das eine der beiden Reizlichter angelockt und entsprechend verfrachtet worden sind als durch das andere und sich infolgedessen nach Versuchsende in den Röhren IIa/IIIa/4a bzw. IIb/IIIb/4b (sowie den zugehörigen Endröhren) befinden. Demnach hat der Reaktionsquotient Q die Bedeutung des relativen Überschusses der häufiger zum UV als zum Blauen gelaufenen Fliegen - relativ, d.h. bezogen auf die Zahl der Tiere, die überhaupt eine Bevorzugung eines der beiden Lichter gezeigt haben - und bildet somit ein leicht errechenbares, wenn auch etwas grobes Maß der mittleren Reaktionstendenz einer bestimmten Gruppe von Fliegen in einem bestimmten Versuch. Numerisch kann Q zwischen +1 und -1 variieren, wobei

negative Werte eine Bevorzugung des blauen Lichtreizes erkennen lassen. Warum das Verteilungsgeschehen im Wulf'schen Phototaxisapparat gerade durch den Wert Q erfaßt wird statt auf eine andere, vielleicht exaktere Weise, begründet die Erläuterung 1. (Dieser Exkurs kann auch übergangen werden).

Natürlich bleibt der Quotient Q, wie jeder auf eine begrenzte Anzahl empirischer Ereignisse gegründete Mittelwert, stets eine statistische Schätzung; denn in einem Verteilungsversuch nicht beliebig ausdehnbarer Dauer kann eine begrenzte Anzahl von Individuen insgesamt eine nur mäßig große Zahl von Alternativwahlen durchführen. Umso unzuverlässiger wäre das Testergebnis, wollte man in der Wulf'schen Phototaxisapparatur die Reaktionstendenz einzelner Versuchstiere bestimmen: man müßte diese Individuen natürlich eine ziemlich große Zahl von Verteilungsschritten mitmachen lassen; doch wäre damit, von den praktischen Schwierigkeiten abgesehen, nicht wesentlich mehr Sicherheit gewonnen, da die Verteilungsautomatik keinerlei Kontrolle darüber zuläßt, wieviel Alternativentscheidungen eine Fliege wirklich trifft, ehe sie am Ende des Versuchs einen bestimmten Platz im Röhrensystem erreicht. Der Phototaxisapparat erlaubt also eine statistisch einigermaßen zuverlässige Bewertung der Lichtreaktion nur für nicht zu kleine Gruppen von Versuchstieren, nicht aber für einzelne Individuen. -

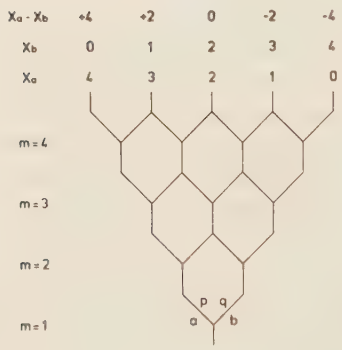
Nachdem ich versucht habe, die Eigenschaften der verwendeten Apparatur zu beschreiben, auch einiges darüber hinzuzufügen, wie Verteilungen in ihr entstehen und was man aus diesen erfährt, soll nun abschließend kurz erläutert werden, Experimente welcher Art mit dem Phototaxisapparat zur Gewinnung von Mutanten durchgeführt worden sind. - Zunächst seien drei Arten von Versuchen grundsätzlich unterschieden: 1. Versuche mit genetisch einheitlich zusammengesetzten Gruppen phototaktisch gleichartiger Fliegen; 2. Versuche mit gemischten Gruppen, bei denen Fliegen zweier deutlich verschiedener Reaktionstypen in vergleichbarer Häufigkeit vorkommen; und 3. Versuche mit praktisch einheitlichen, genau genommen aber ebenfalls gemischten Gruppen, die sich aus Fliegen eines

Erläuterung 1

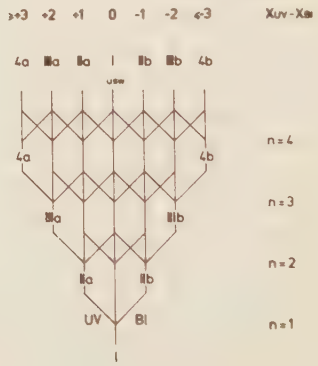
Bemerkungen zur Verteilungsstruktur des Wulf'schen Phototaxisapparats und zur Auswertung der gewonnenen Ergebnisse

Um von dem, was in der beschriebenen Phototaxismaschine vor sich geht, eine von technischen Details losgelöste, abstrakte Vorstellung zu bekommen und dabei Zugang zu den adäquaten mathematischen Beziehungen zu finden, scheint es mir zweckmäßig, sich zunächst ein Schema der bekannten binomischen Entwicklung $(a + b)^m$ vor Augen zu führen (Abb. A).

A



B



Dieses - realisiert z.B. in dem Galton'schen Zufallsapparat - veranschaulicht die streng geregelte Abfolge von m = 4 Entscheidungen zwischen den alternativen Ereignissen a und b in allen ihren Kombinationsmöglichkeiten. Wie häufig unter N Entscheidungsfolgen die Ereignisse a und b x_a- bzw. x_b-mal zu erwarten sind, wird durch die gezeigte Verteilungsstruktur eindeutig bestimmt, vorausgesetzt, die Alternativwahrscheinlichkeiten p und q (p + q = 1) mit denen a bzw. b jeweils eintreffen, liegen fest. Umgekehrt lassen sich p und q be-

rechnen, wenn die durch einen binomischen Prozess zustande gekommene Häufigkeitsverteilung bekannt ist. Dabei gilt:

$p = \frac{\sum f x_a}{N \cdot m}$ und $q = \frac{\sum f x_b}{N \cdot m}$. In anderer Formulierung ergibt sich daraus eine einzige den Verteilungsablauf steuernde Größe

$r = p - q = \frac{\sum f(x_a - x_b)}{N \cdot m}$, die angibt, ob und in welchem Ausmaß in jeder einzelnen Entscheidung eher das Ereignis a oder b zu erwarten ist. Im Gegensatz zu p und q variiert r zwischen +1 und -1.

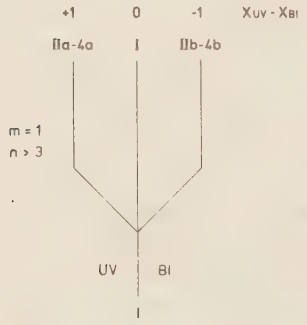
Als zwar nicht gänzlich anders, aber doch in wichtigen Punkten abweichend erweist sich die Struktur der Abläufe im Wulf'schen Phototaxisapparat (Abb. B). Zwei Unterschiede sind festzustellen:

1. Außer der Alternative zwischen einer UV- oder Blau-Reaktion (den Ereignissen a und b entsprechend) bleibt den Fliegen jeweils noch die dritte Möglichkeit offen "auszusetzen", d.h. einen Verteilungsschritt auch ohne Entscheidung (ohne Positionswechsel im Röhrensystem) mitzumachen. Es entsteht so - in der Darstellungsweise der Abb. A - ein Netz zweier sich überschneidender, regelmäßig verknüpfter Binomialstrukturen.
2. Während man sich vorzustellen hat, daß der Verzweigungsgrad der in Abb. A wiedergegebenen Struktur mit wachsendem m regelmäßig zunimmt, kommt es in B - weil die Anzahl der Röhren im Apparat auf sechs beschränkt ist - nach n = 3 Verteilungsschritten nicht mehr zu einer Vergrößerung des Systems. Die Wahlmöglichkeiten bleiben in festen, vorgegebenen Grenzen.

Diese beiden Besonderheiten haben nun zur Folge, daß im Ablauf des Phototaxisversuchs ein Teil der für die Berechnung des oben definierten Ausdrucks r notwendigen Informationen verloren geht, d.h. aus der Verteilung der Fliegen auf die Röhren des Apparats nicht mehr ablesbar ist. So kann, aufgrund von Punkt 2, zwischen solchen Versuchstieren, bei denen die Anzahl z.B. der UV-Reaktionen die der Blau-Wahlen um gerade 3 übersteigt ($x_{UV} - x_{Bl} = 3$), und anderen, welche

ihrer Reaktionstendenz nach viel häufiger zum UV hingelaufen wären, grundsätzlich nicht unterschieden werden; und daher läßt sich der Wert $\sum f(x_{UV}-x_{Bl})$, der im Zähler von r steht , in Versuchen mit sinnvollerweise mehr als drei Läufen ($m > 3$) nicht genau bestimmen. Außerdem erfährt man ebensowenig Sicheres über die Anzahl der von jedem einzelnen Versuchstier getroffenen Alternativentscheidungen ($m \leqslant n$ wegen Punkt 1 und 2).

Obwohl die Größe r, wie das Schema A ausweist, ein ideales Maß der Reaktionstendenz im Phototaxisapparat wäre, ist es aus den genannten Gründen unumgänglich, sich mit einem weniger differenzierten rechnerischen Ausdruck, eben mit Q, zu begnügen. Auf welche Weise der Übergang von r zu Q erfolgt und warum, ist leicht anschaulich zu machen, indem man sich die Struktur B in die Struktur C reduziert denkt (Abb.C).



Deren einfache Form entsteht, wenn nur noch ein Minimum von $m = 1$ Wahlentscheidungen bewertet wird, man also konsequenterweise ganz darauf verzichtet zu berücksichtigen, um wieviel die Fliegen das eine der beiden Testlichter häufiger bevorzugen als das andere. (Die Versuchstiere im Röhrenelement I , für welche eine Wahl überhaupt nicht nachweisbar ist, müssen natürlich unbeachtet bleiben). Auf analoge Weise geht

$$r = \frac{\sum f(x_{UV}-x_{Bl})}{N \cdot m} \quad \text{über in}$$

$$\frac{f_{UV}\cdot(+1) + f_{Bl}\cdot(-1)}{(N_{UV} + N_{Bl})\cdot 1} = \frac{N_{UV} - N_{Bl}}{N_{UV} + N_{Bl}} = Q.$$ Q ist das adäquate Maß der Reaktionstendenz für die in Abbildung C dargestellte Verteilungsstruktur.

Die Verteilungsstruktur des Wulf'schen Phototaxisapparats und die Kriterien der Auswertung in ihm erzielter Ergebnisse sind also einander eigentlich nicht ganz adaquat. Die Auswertung erfolgt so, als ob von jedem Versuchstier nur eine einzige eindeutige Wahlentscheidung getroffen worden wäre. Tatsächlich aber können die Fliegen, ohne daß sich dies kontrollieren ließe, häufiger wählen; was wie das Ergebnis einer einzigen Entscheidung beurteilt wird, kann in Wahrheit die Summe vieler, verschiedenartig zusammengesetzter Entscheidungen sein. Daraus ist zu entnehmen: Der Reaktionsquotient Q erreicht bei weitem nicht die Genauigkeit des Idealwerts r, ja er erfaßt nicht einmal die volle Information der Verteilungsstruktur des Apparates selbst, was in allgemeiner, einfacher Formulierung auch nicht möglich zu sein scheint. Immerhin aber ist Q zuverlässiger, weil die Summe aus komplexeren Ereignissen bildend, als das Schema C vorgibt. Welchem der beiden Testlichter ein Versuchstier mehr zuneigt, erweist sich eben nach einer größeren Zahl von Entscheidungen besser als nach einer einzigen. Dieses "besser" ist in den Q-Werten der Phototaxistests durchaus enthalten, wenn auch nicht in exakt quantifizierter Form.

Haupttyps und seltenen, davon deutlich abweichenden Ausnahmen zusammensetzen. Das Ziel solcher Versuche - im UV-Blau-Test - bestände im ersten Falle in einer Erfassung der UV-gegen-Blau-bezogenen Reaktionstendenz bei einem bestimmten Typ oder Stamm von Fliegen im Vergleich zu anderen; im zweiten wäre man an einer gleichzeitigen Charakterisierung zweier verschiedener, äußerlich unterscheidbarer Reaktionstypen in ein und demselben Versuch interessiert oder an einer Trennung und Reinigung nur am Verhalten erkennbarer Typen; und schließlich sollen im letzten Falle aus der Masse einheitlich reagierender Fliegen seltene, abweichende Individuen ausgesondert werden, also z.B. Mutanten aus einer Wildtyppopulation. - Die Gewinnung von Mutanten mit Hilfe der beschriebenen Apparatur hat, wie noch in Einzelheiten zu erläutern sein wird, in zwei Stufen zu erfolgen. Dabei kommt von den genannten drei Versuchsarten zuerst die dritte zur Anwendung, dann die erste: Zunächst muß man sich um die Isolierung nur sporadisch auftretender Individuen mit deutlich abweichender Reaktion bemühen; doch weil die phototaktische Tendenz von Einzeltieren ja nur verhältnismäßig unsicher bestimmt werden kann, bleibt hier die Auslese mutmaßlicher Mutanten schon deshalb eine vage Angelegenheit. Erst in der zweiten Stufe des Verfahrens, wenn nach geeigneter Vermehrung der ausgesonderten Kandidaten deren Nachkommenschaften in genetisch einheitlichen Gruppen vorliegen, ist eine Charakterisierung als im UV-Blau-Test normal oder abnorm, also eine Identifizierung von Mutanten, im Verteilungsversuch möglich.

In den nächsten Abschnitten möchte ich der Reihe nach aufzählen, was mir - über die Beschaffenheit der Versuchsapparatur hinaus - an methodischen Einzelheiten für das Verständnis des Verfahrens zur Gewinnung von Mutanten wichtig erscheint.

b) Versuchstiere

α) Züchtung geeigneter Versuchstiere

Selbstverständlich wird man die Suche nach Mutanten, zumal solchen mit komplexen Verhaltensmerkmalen, nicht unter beliebigen Fliegen beginnen. Vielmehr ist es wichtig, von Versuchstieren auszugehen, die sich einerseits von einem Wildtyp mit starker, normaler Phototaxis ableiten, unter denen andererseits aber Mutanten, ganz allgemein, mit hinreichend großer Häufigkeit zu erwarten sind.
Die erste der beiden Forderungen, nach der Wahl eines geeigneten Wildtyps, war leicht zu erfüllen: Ich habe Fliegen eines schon längere Zeit im Zoologischen Institut gehaltenen "Oregon"-Wildstamms benutzt, welcher bereits von Frau Wulf erfolgreich im Phototaxisapparat erprobt worden war und der auch in eigenen Vorversuchen zufriedenstellende, etwas bessere phototaktische Reaktionen und größere Beweglichkeit gezeigt hatte als der Stamm "Berlin" und ungefähr gleich gute wie der Stamm "Sevelen".
Was die zweite oben genannte Forderung betrifft, so benutzt man seit Benzers erster Arbeit über die Gewinnung von Verhaltensmutanten, um solche an sich seltenen Individuen häufiger und sicherer finden zu können als in Normalpopulationen, zwei Methoden: (1) eine Methode zur Erleichterung der Kreuzungsprozeduren, insbesondere zur Beschleunigung des Manifestwerdens von Mutationen, bei der als zytogenetisches Hilfsmittel ein besonderer Stamm mit einem sog. attached-X-Chromosom verwendet wird; und (2) eine Methode zur Erhöhung der Mutationsrate durch das chemische Mutagen EMS. Beide Verfahren möchte ich kurz beschreiben und erläutern.
(1) Da die meisten mutierten Allele bekanntlich einen rezessiven Erbgang zeigen, treten Mutationen normalerweise - trotz intensiver Inzucht - erst mehrere Generationen nach ihrer Entstehung phänotypisch in Erscheinung. Bei der Suche nach Mutanten wäre der Zuchtaufwand also entsprechend groß, die Ausbeute an homozygoten bzw. hemizygoten Merkmalsträ-

gern relativ klein. Man hat deshalb schon seit langem zytogenetische Techniken entwickelt, die Mutationen schon recht bald nach ihrem Auftreten in den Keimbahnzellen, im günstigsten Fall schon in der ersten Nachkommenschaft, erfaßbar machen. Die wirksamste dieser Methoden bedient sich des attached-X($\widehat{XX}$)-Chromosoms, das,wie der Name sagt, aus zwei aneinanderhängenden, eine Einheit bildenden X-Chromosomen besteht. Die Abb.4A verdeutlicht dessen Erbgang in einem Stamm, bei dem die Weibchen außer dem $\widehat{XX}$- noch ein Y-Chromosom tragen. Wie man dort sieht gibt es in einem solchen Stamm nur zwei lebensfähige Genotypen, $\widehat{XX}$Y-Weibchen und XY-Männchen. Ein attached-X-Chromosom tragen also nur Weibchen, während das freie X-Chromosom ausschließlich in der Linie der männlichen Nachkommen auftritt. Demgegenüber werden die Y-Chromosomen - wie sonst das X - "über Kreuz" vererbt, d.h. man findet sie von Generation zu Generation wechselnd in beiden Geschlechtern.

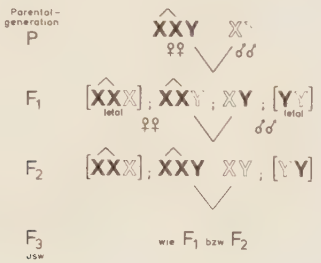
Die Koppelung des X-Chromosoms an das männliche Geschlecht hat nun zur Folge, daß eine Mutation, die sich in den Keimzellen irgendeines Männchens auf dem X-Chromosom ereignet, bereits in der ersten Nachkommenschaft bei einer einzigen, ebenfalls männlichen Fliege phänotypisch ausgeprägt werden kann und dann bei sämtlichen männlichen Nachkommen dieses mutierten Individuums auftritt. Das ist in der Abb.4B anschaulich gemacht. Die Kreuzung von normalen, gelegentlich jedoch in ihren Keimzellen mutierten Wildtyp-Männchen mit $\widehat{XX}$Y-Weibchen führt also zu einer ersten Nachkommenschaft, in der man unter den Männchen bereits einzelne Mutanter - Träger eines bei ihrem Vater veränderten X-Chromosoms - isolieren kann; die an das X-Chromosom gekoppelten erblichen Eigenschaften dieser Mutanten lassen sich dann, nach Einzelzucht mit attached-X-Weibchen, von der zweiten Nachkommenschaft ab an genetisch einheitlichen Gruppen männlicher Mutationsträger zuverlässig untersuchen.

Den Vorzügen der attached-X-Methode, bei relativ geringem Zuchtaufwaufwand und leicht überschaubaren genetischen Verhältnissen Mutanten schnell auffindbar und kreuzungsanaly-

Abbildung 4

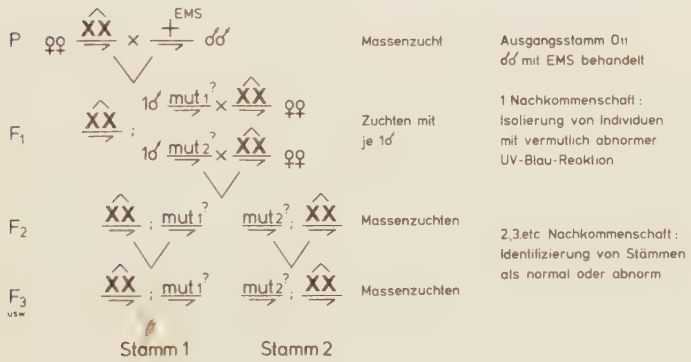
Schema der Kreuzungen mit dem attached-X-Stamm (Autosomen nicht berücksichtigt)

A



Erbgang des attached-X($\hat{XX}$)- und des freien X-Chromosoms in einem $\hat{XX}$Y-Stamm

B



Erbgang von Mutationen auf dem freien X-Chromosom; zugleich Kreuzungsschema des Verfahrens zur Gewinnung von Mutanten

tisch sicher identifizierbar zu machen, steht allerdings der Nachteil entgegen, daß außer Mutationen auf dem X-Chromosom, welches nur etwa 1/5 des Genoms ausmacht, nur die seltenen dominant autosomalen Erbänderungen erfaßt werden können. Dieser Nachteil muß, solange die Versuche zur Gewinnung von Verhaltensmutanten noch in den Anfängen stekken, in Kauf genommen werden. Mehrere Autoren sind aber bereits dazu übergegangen, mit Hilfe komplizierterer zytogenetischer Methoden auch die Gene der Autosomen in ihre Untersuchungen einzubeziehen (Heisenberg, 1974; Koenig und Merriam, 1977).

Nach diesen mehr allgemeinen Bemerkungen möchte ich noch einige Angaben über die genetischen Eigenschaften des verwendeten Zuchtstamms machen. Frau Wulf hatte sich für ihre Versuche einen attached-X-Stamm hergestellt, dessen $\widehat{XX}$-Chromosom doppelt mit der Mutation "yellow" (y = gelbe Körperfarbe) markiert war - die Weibchen sind daher phänotypisch "yellow" - und dessen Individuen, Weibchen wie Männchen, außerdem alle das gleiche 2. und 3. Chromosom trugen (Isogenie für das 2. und 3. Chromosom). Ich habe diesen Stamm übernommen; doch schienen mir im gegenwärtigen experimentellen Stadium die Vorteile einer Isogenität der Autosomen (geringere phänotypische Variabilität) weniger bedeutend als ihre Nachteile (Veränderlichkeit der genetischen Struktur des Stamms, verminderte Vitalität und Fruchtbarkeit der Fliegen, möglicherweise etwas schwächere Phototaxis). Deshalb habe ich die $\widehat{XXY}$-Weibchen in elf Rückkreuzungsschritten mit Männchen des oben genannten Oregon-Stamms gepaart und so für meine Versuche einen Ausgangsstamm (O_{11}) gewonnen, der, bis auf das attached-X-Chromosom im weiblichen Geschlecht, hauptsächlich die genetischen Eigenschaften des Oregon-Wildtyps besitzen sollte. Alle seine Weibchen sind phänotypisch "yellow", alle seine Männchen "normal". Letztere erwiesen sich in der Wulf'schen Phototaxisapparatur als gut beweglich und zeigten befriedigend empfindliche Reaktionen auf UV- und Blau-Licht (vergl. Abb.5). Welche Kreuzungen mit den Fliegen dieses Ausgangsstamms durchge-

führt worden sind, ließ sich bereits der Abbildung 4B entnehmen.

(2) Wenn auch die beschriebene attached-X-Methode das Auffinden von Mutanten beträchtlich erleichtert, so bleibt deren Häufigkeit doch nach wie vor sehr gering. Dem allein durch eine entsprechend hohe Auslese im Phototaxisversuch zu begegnen, wäre äußerst aufwendig. Daher ist es nötig, die Häufigkeit von Mutationen stark zu vergrößern und so die Ausbeute an Mutanten zu verbessern. Drosophila-Genetiker bevorzugen zu diesem Zweck in letzter Zeit das chemische Mutagen Äthylmethansulfonat (engl. Abkürzung EMS), eine monofunktionelle, alkylierende Verbindung ($CH_3-SO_2-O-C_2H_5$), welche sich durch Verfüttern leicht einer größeren Anzahl von Fliegen verabreichen läßt, die eine besonders starke mutagene Wirkung, vor allem auf die Spermatiden und Spermatozoen der Männchen, ausübt und dessen Mutationsspektrum neben Chromosomenaberrationen der verschiedensten Art in großem Umfang Punktmutationen umfaßt, wie sie hier und in ähnlichen Arbeiten erwünscht sind.

Eine inzwischen gut bewährte Technik zur Verabreichung von EMS an Drosophila-Männchen ist von Lewis und Bacher (1968) beschrieben worden; man findet dort auch Hinweise auf Sicherheitsvorkehrungen für den Umgang mit dem natürlich giftigen Stoff. Ich bin im wesentlichen ähnlich verfahren wie die genannten Autoren, nämlich folgendermaßen: In einer Serie von mehreren, gleichzeitigen Ansätzen sind (pro Ansatz) jeweils 150 Männchen des O_{11}-Stamms im Alter von 1-2 oder 2-3 Tagen 22-24 Stunden lang einer 0,25 vol%igen (= 0,0244 molaren) Lösung des Mutagens ausgesetzt worden. Dies geschieht am besten in Zuchtgläsern, die das Agens in einer gut durchtränkten, dem Boden fest angedrückten Lage Zellstoff enthalten. Da die Fliegen das EMS allerdings nicht mögen, muß man es ihnen durch Verdünnen mit einer 1%igen Rohrzuckerlösung schmackhafter machen. Außerdem habe ich die Tiere, damit sie das Mutagen besser aufnehmen, vor der Behandlung 6-8 Stunden lang auf feuchtem Papier hungern oder 2 Stunden in leeren, trockenen Gläsern dür-

sten lassen. Nach der EMS-Behandlung erfolgte dann die Paarung der inzwischen 2 - 4 Tage alten Männchen mit einer etwa gleich großen Anzahl gleichaltriger attached-X-Weibchen (vergl. Abb.4B). Diese hatten jetzt Gelegenheit, auf frischem Futter Eier zu legen und wurden dann zur weiteren Eiablage zusammen mit den Männchen täglich auf neues Futter umgesetzt. Insgesamt sind sechs solcher Mutationsserien mit durchschnittlich acht Ansätzen in der beschriebenen Weise angelegt worden.

Ob das Mutagen unter den angewendeten Bedingungen wirksam ist, in der ersten Nachkommenschaft also mit einer wesentlich erhöhten Anzahl männlicher Mutationsträger der verschiedensten Art gerechnet werden darf, läßt sich auf einfache und quantitativ zuverlässige Weise aus der Häufigkeit rezessiver Letalmutationen auf dem X-Chromosom abschätzen. Diese führen, weil sie nur bei den Männchen zur Ausprägung kommen können, zu einer Veränderung des Geschlechtsverhältnisses in der ersten Nachkommenschaft, d.h. zu einer Verminderung der auf die Anzahl der Weibchen bezogenen relativen Häufigkeit R der Männchen: $R_{♂}^{EMS} = H♂♂/H♀♀$ nach EMS-Behandlung ist größer als $R_{♂}^{Kontr.}$ ohne EMS-Behandlung. Folglich ist die Größe des Quotienten $R_{♂}^{EMS}/R_{♂}^{Kontr.}$ - der Anteil der überlebenden F_1-Männchen ohne Letalmutation auf dem X-Chromosom ($A_{♂}^{Uberl.}$) - ein Maß der mutagenen Potenz: je stärker die relative Häufigkeit der männlichen Fliegen in der ersten Nachkommenschaft, verglichen mit dem Geschlechtsverhältnis in Zuchten unbehandelter Tiere, herabgesetzt ist, umso größer auch, unter den gewählten Bedingungen, die Mutagenität des verwendeten Agens. In der Tabelle 1 sind die Geschlechtsverhältnisse aus den Zuchten der sechs Mutationsserien sowie aus einigen Kontrollzuchten zusammengestellt. Trotz erheblicher Schwankungen der einzelnen Werte, sowohl innerhalb als auch zwischen den einzelnen Serien und ebenso auch bei den Kontrollen, zeigen die Ergebnisse deutlich, daß die Männchen durch das Mutagen erheblich dezimiert worden sind. Dies gilt auch noch für Nachkommenschaften, welche aus 5 Tage nach der EMS-Behandlung abgelegten Eiern

Tabelle 1

Ergebnisse der Mutationsansätze

a) Geschlechtsverhaltnis Rσ' (EMS) in der ersten Nachkommenschaft EMS-behandelter Männchen

Mutationsserie	Rσ' in Nachkommenschaften taglich umgesetzter Ansatze★					Gesamtzahl gezahlter Tiere
	1.Tag	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	
I	0,378	0,399	0,463	0,447	0,444	5599
II	0,365	0,405				2062
III	0,514	0,522	0,633			11098
IV	0,527	0,561				6324
V	0,488	0,535	0,380	0,488	0,552	7964
VI	0,551					2780
I - VI	Rσ'(EMS)gesamt = 0,50					35827

b) Geschlechtsverhaltnis Rσ' (Kontrolle) in der Nachkommenschaft von Kontrollzuchten ohne EMS-Behandlung

Serie	Rσ' (Kontrolle)	Gesamtzahl
A	1,31	2793
B	1,25	2171
C	1,16	2329
A - C	1,24	7293

Rσ'(Kontrolle)gesamt=1,24

★Es sind die Ergebnisse mehrerer gleichzeitiger Ansätze zusammengefaßt. Die Auszahlung umfaßt nicht alle der für die Gewinnung von Mutanten angelegten Zuchten.

$$\frac{R\sigma'(EMS)gesamt}{R\sigma'(Kontrolle)gesamt} = A\sigma'(Uberl.) = \frac{0,50}{1,24} = 0,40$$

hervorgehen. Insgesamt beträgt der Anteil der überlebenden Männchen im Mittel 0,40; 60% der männlichen F_1-Embryonen haben also ein X-Chromosom mit mindestens einer Letalmutation erhalten und sind daran zugrundegegangen, ein beträchtlicher Wert, den auch Benzer (1967) gefunden hat. Eine noch anschaulichere Vorstellung von der Wirkung des Mutagens gewinnt man durch Anwenden der Poisson-Statistik. Vorausgesetzt nämlich, die Verteilung X-chromosomaler Letalmutationen auf die Embryonen der F_1 ist zufallsgemäß, entspricht also einer Poisson-Verteilung, dann darf der experimentell bestimmte Anteil überlebender Männchen ohne Letalmutation $A_{♂}^{Überl.}$ mit der im Durchschnitt zu erwartenden Anzahl z verschiedener Letalmutationen pro Embryogenom durch die Überlebensfunktion $A_{♂}^{Überl.} = e^{-z}$ verknüpft werden. Daraus läßt sich z direkt berechnen: $z = -\ln 0{,}40 = 0{,}92$. Demnach war unter den Bedingungen des beschriebenen Mutationsverfahrens jedes befruchtete X-Spermium der dem Mutagen ausgesetzten Tiere und folglich jedes dadurch gezeugte, zukünftige Männchen Träger von im Mittel fast einer rezessiven Letalmutation auf dem X-Chromosom, also von 4-5 derartigen Letalfaktoren im haploiden Genom. Freilich bleibt die Zahl sämtlicher induzierter Mutationen unbekannt. Dennoch erscheint die Größenordnung des gesetzten genetischen Schadens weder zu klein noch, was gleichfalls unerwünscht wäre, zu groß.

β) Haltung der Versuchstiere

Bevor ich auf die Durchführung der eigentlichen Experimente im Phototaxisapparat eingehe, möchte ich darlegen, was mit den Versuchstieren geschieht, ehe ihre Lichtreaktionen einer Prüfung unterzogen werden; denn natürlich haben die Bedingungen der Tierhaltung einen nicht unwesentlichen Einfluß auf die Ergebnisse (vergl. z.B. Dürrwächter, 1957). Ich habe mich bemüht, diese Bedingungen - zum Teil zurückgreifend auf die Erfahrungen von Frau Wulf und anderer Autoren, zum Teil aufgrund eigener Experimente - so zu wählen, daß die Fliegen später im Versuch bei befriedigender

und gleichbleibender allgemeiner Aktivität ein typisches, möglichst wenig variables phototaktisches Verhalten an den Tag legen.

Aus den für Versuche bestimmten Zuchten der in Abb.4B aufgeführten Kreuzungen sind jeden Abend die im Verlauf eines Tages geschlüpften männlichen Fliegen entnommen, d.h. unter möglichst leichter Athernarkose von den Weibchen getrennt und in Gruppen zu meist 100 Tieren, den späteren Versuchsgruppen, auf frisches Futter gesetzt worden. (In gewissen Fällen, die an anderer Stelle genannt werden, beträgt die Zahl der Männchen bis zu 200 pro Gruppe). Diese Fliegen habe ich dann - weil bekanntlich bei jüngeren Tieren die Pterinsynthese im Auge noch nicht abgeschlossen und die spontane Aktivität relativ gering ist - in der Regel vier Tage lang in ihren Gläsern im Zimmer aufbewahrt, und zwar anfänglich, noch im Experimentierstadium der Versuche, unter natürlichen Lichtbedingungen, später bei zusätzlicher Beleuchtung mit einer 60 Watt Glühlampe (ca. 300 μWatt/cm^2) am Tage (ab 8^{30}) und bei Verdunkelung in der Nacht (ab 20^{30}), also unter Einhalten eines strengen, 12-stündigen Hell-Dunkel-Wechsels mit mehr künstlichem als natürlichem Licht.

Am Nachmittag vor dem Versuchstag wurden die Fliegen von dem inzwischen alt gewordenen Futter auf frisches umgeschüttelt, wo sie mindestens 2-3 Stunden lang fressen durften, um anschließend den Rest der Zeit bis zum Versuch, unter Wahrung des genannten Rythmus von hell und dunkel, im Hungerglas verbringen zu müssen, d.h. in einem Glas mit reichlich befeuchtetem Zellstoff, aber ohne Futter. Eine solche Behandlung ist normalerweise - bei Wildtypfliegen und Temperaturen nicht weit über 20°C - bis zu Hungerzeiten von 24 Stunden möglich, ohne daß die Fliegen sichtbar Schaden nehmen; sie ist meinen Erfahrungen nach nötig oder zumindest sehr nützlich, weil gut genährte Fliegen in Apparaturen mit längerer Versuchsdauer und gleichbleibenden Bedingungen meistens viel weniger beweglich und in ihren Reaktionen schlechter kontrollierbar sind als hungrige. Al-

lerdings erwiesen sich die Nachkommen EMS-behandelter Tiere und auch einige Mutanten als dem ihnen verordneten Nahrungsentzug nicht so gut gewachsen wie der Wildtyp; daher habe ich, zumal wenn die Sommerhitze den Fliegen zuzusetzen begann, die bis zum Beginn des Versuchs ohne Futter zugebrachte Zeit, zunächst zu lang gewählt, später verkürzen müssen (siehe unten).
Damit komme ich zu den Versuchen selbst.

c) Durchführung der Versuche im Phototaxisapparat

α) Allgemeine Versuchsbedingungen

Für den Test der Spontanreaktion auf monochromatische Lichter im Wulf'schen Phototaxisapparat neue Standardbedingungen zu finden, bei denen die Versuchstiere in kurzer Versuchszeit aufschlußreiche und reproduzierbare Verteilungsergebnisse liefern, erschien mir besonders wichtig; denn nur unter solchen Voraussetzungen ist die Gewinnung von Mutanten mit vertretbarem Arbeitsaufwand möglich. Ich habe auch, um die ohnehin große umweltabhängige Variabilität des phototaktischen Verhaltens in erträglichen Grenzen zu halten, manche Unbequemlichkeiten auf mich genommen, die für günstig erachteten Bedingungen streng und routinemäßig anzuwenden. Dabei standen, wie schon bei der Haltung der Tiere, jene Faktoren im Vordergrund, welche eine gleichmäßig hohe Beweglichkeit der Fliegen zu fördern schienen. Im folgenden beschreibe ich den Ablauf eines Versuchs unter Berücksichtigung möglichst vieler methodischer Einzelheiten und nenne - mehr in Parenthese - die Ergebnisse einiger damit im Zusammenhang stehender Experimente.
Alle Versuche wurden entweder am Vormittag zwischen 8^{30} und 11^{30} oder am Nachmittag von 18^{00} bis 21^{00} durchgeführt, weil nach den Befunden zahlreicher Autoren (z.B. Hardeland und Stange, 1971) Drosophila melanogaster zu diesen beiden Tageszeiten - also "morgens" nach Lichtbeginn und "abends" vor Lichtende - die höchste spontane Aktivität besitzt. (In einigen Probeversuchen zwischen 14^{00} und 16^{30} waren

die Fliegen denn auch bedeutend weniger beweglich gewesen als unter sonst gleichen Bedingungen in den Morgen- und Abendstunden: Tabelle 2). Die vormittags zu testenden Tiere kamen stets aus dem Dunkeln zum Versuch, diejenigen vom Nachmittag natürlich aus dem Hellen. Erstere hatten 15-18, später 10-14 Stunden im Hungerglas verbracht und waren in der Regel 5-6 Tage alt, letztere mußten zunächst länger (19-22 Stunden) später aber kürzer (9-13 Stunden oder noch weniger) hungern und waren naturgemäß einen halben Tag älter. Jede Versuchsgruppe wurde 25 Minuten vor dem Test in den Versuchsraum gebracht, damit sie sich an die dort herrschenden Bedingungen gewöhnen konnte.
Als Versuchsraum diente eine hermetisch abschließbare, ca. $5m^2$ große Klimakammer, deren Temperatur auf $23 \pm 1^{\circ}C$ und deren relative Luftfeuchtigkeit auf 65-70% eingestellt wurde. Letzteres habe ich niedrigeren Luftfeuchtigkeiten vorgezogen, weil diese sich in einigen vergleichenden Experimenten (mit Feuchtigkeitswerten von 50-85%) als für die Beweglichkeit und phototaktische Reaktion der Fliegen weniger günstig zu erweisen schienen; doch lassen die Ergebnisse nur geringfügige, keine signifikanten Unterschiede erkennen. Größere Bedeutung dürfte der Beleuchtung des Versuchsraums zukommen. Wie zahlreiche Experimente gezeigt haben, ist nämlich die spontane Aktivität von Wildtypfliegen bei Versuchen, die - von den nur relativ wenig Helligkeit verbreitenden Testlichtern abgesehen - im Dunkeln stattfinden, häufig sehr gering; jedoch steigt die Lauffreudigkeit der Tiere im Phototaxisapparat recht deutlich an, wenn außer den Reizlichtern noch eine Nebenbeleuchtung vorhanden ist, die eine gleichmäßige, diffuse Erhellung der Klimakammer bewirkt. Dieser Effekt nimmt mit der Stärke der Nebenbeleuchtung zu, ohne - in gewissen Grenzen - die Reaktion auf nicht zu schwache Reizlichter zu stören. (Eine Gegenüberstellung der Ergebnisse von Versuchen mit verschiedenen Raumbeleuchtungen gibt die Tabelle 3). Da mir nicht akzeptabel erschien, daß in einem auf die Erfassung möglichst vieler Tiere abgestellten Routinetest ein höherer Anteil von Individuen - trotz

Tabelle 2

Verteilungsversuche zur Beweglichkeit der Fliegen zu verschiedenen Tageszeiten

Versuchsbedingungen*	Versuchs-zeit	$\bar{Q}$	w%**	$\bar{w}\%\pm s$	statistischer** Vergleich der Mittelwerte in t-Test
Weißlicht-gegen-Dunkel-Versuche mit Wildtyp "Berlin"(♂♂)	15^{10}	1	54,4	$53,7\pm0,99$	$t=15,3$ $\nu=2,8$ $p=0,0008$
	16^{05}		53,0		
Außer dem Testlicht keine Nebenbeleuchtung - Serie 1	9^{55}	0,791	31,3	$32,5\pm,70$	
	18^{50}		33,7		
UV-Blau-Versuche mit dem Wildtyp "Sevelen" (♂♂); als Nebenbeleuchtung dient eine gelbe 25Watt-Lampe Serie 2	14^{00}	0,561	26,5	$29,9\pm4,81$	$t=5,96$ $\nu=1,7$ $p=0,03$
	15^{00}		33,3		
	9^{00}	0,566	8,3	$8,5\pm1,64$	
	11^{00}		9,7		
	18^{00}		10,1		
	18^{40}		8,6		
	19^{55}		5,9		

*Die Versuchsbedingungen (vergl. dazu auch Tabelle 3) sind an dieser Stelle an sich ohne Bedeutung, jedoch erklären sie den Unterschied im Reaktionsquotienten Q beider Serien.

**Wesentlich für das Verständnis der Tabelle ist die Größe w%, die hier (wie auch später) als reziprokes Maß für die Beweglichkeit von Versuchsgruppen im Verteilungsapparat verwendet wird. Es handelt sich dabei um die prozentuale Häufigkeit der nach Versuchsende in der Ausgangsröhre (I+1+1') gefundenen Tiere. Wenn w% klein ist, dürfte plausiblerweise die Lauffreudigkeit der Versuchstiere, ihre Tendenz, sich im Röhrensystem zu verteilen, groß sein - und umgekehrt. Die Normierung der absoluten Häufigkeit w auf den Wert 100, obgleich statistisch an sich nicht zulässig, erscheint tragbar, weil die Individuenzahl in sämtlichen Versuchen von 100 nur wenig abweicht. Außerdem muß man bei der Beurteilung der Größe w% folgendes beachten: Diese ist nur ein sehr ungenaues, verzerrtes Maß der Beweglichkeit, da ja nicht allein diejenigen Fliegen gezählt und verglichen werden, welche, völlig regungslos oder bloß schwach aktiv, den

Anmerkungen zur Tabelle 2 (Fortsetzung)

ganzen Versuch über in der Ausgangsröhre verbleiben - was eigentlich das Ziel der Analyse wäre -, sondern außerdem noch im Verlauf des Tests, im Hin und Her der Reaktionen, "zufällig" dorthin geratene, mehr oder weniger normal lauffreudige Tiere. Nun sollte aber in Versuchen mit gleich großem Quotienten Q (dessen Wert von w unabhängig ist, doch eben nicht umgekehrt) die relative Häufigkeit der in der Ausgangsröhre vorgefundenen beweglichen Fliegen - bezogen auf die Gesamtzahl aller beweglichen Tiere - im Durchschnitt übereinstimmen; und die auf alle Fliegen bezogene Häufigkeit dieser Beweglichen sollte mit der Zahl der Unbeweglichen abnehmen. Findet man also in Versuchen mit vergleichbarem Q einen signifikanten Unterschied im Betrag von w%, dann darf wohl angenommen werden, daß dies auf einer unterschiedlichen Häufigkeit der unbeweglichen Fliegen beruht. Was die quantitative Seite des statistischen Tests betrifft, so führt die gemeinsame Erfassung von beweglichen und unbeweglichen Versuchstieren in der Größe w% zu einer Unterbewertung der tatsächlichen Aktivitätsunterschiede, wie sie sich aus einem direkten Vergleich der inaktiven Fliegen ergeben würden. Einem signifikanten Unterschied von w% darf man folglich - Vergleichbarkeit von Q vorausgesetzt - Vertrauen schenken.

***Der hier wie später in allen ähnlichen Fällen angewendete statistische Test setzt - vorsichtshalber - nicht voraus, daß Unterschiede in den Streuungen (s_1 und s_2) der miteinander verglichenen Mittelwerte ($\bar{x}_1$ und $\bar{x}_2$) rein zufällig sind. Es gelten dann (nach Sachs, Statistische Auswertungsmethoden, 1969) die Formeln:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_d} \quad \text{wobei} \quad s_d = \sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}$$

und ν (die Anzahl der Freiheitsgrade) $= \dfrac{\left(\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}\right)^2}{\frac{\left(\frac{s_1^2}{N_1}\right)^2}{N_1+1} + \frac{\left(\frac{s_2^2}{N_2}\right)^2}{N_2+1}} - 2$

Dieser t-Test liefert meist relativ "ungünstige", d.h. hohe Grenzwahrscheinlichkeiten p einer bloß zufälligen (einseitigen) Abweichung der Mittelwerte, besonders dann, wenn einem der beiden Mittelwerte sowohl eine relativ große Streuung (s) als auch ein sehr kleiner Stichprobenumfang (N) zugeordnet ist (vergl. die Serie 2 der Tabelle).

Tabelle 3

Verteilungsversuche bei verschiedenen Raumbeleuchtungen zum Vergleich der Beweglichkeit der Versuchsgruppen

(Stamm "Berlin"-♂♂)

Versuchsbedingungen*	Raumbeleuchtung: ① ohne Nebenbeleuchtung	Gelblicht (gelbe 25 Watt-Glühlampe)	Weißlicht** (40 Watt-Gluhlampe)	④ Xenon-Nebenbeleuchtung***
Dunkelversuche (ohne Testlichter)	$\bar{Q}$=0,175 $\bar{w}$%=47,4±3,42 N=3	$\bar{Q}$=-0,124 $\bar{w}$%=19,6±?,07 N=4		$\bar{Q}$=0,05 $\bar{w}$%=9,98±6,25 N=4
	t=11,12 p=<0,0005 ν=5		t=2,76 p=0,03 ν=5,3	
UV-Blau-Versuche	$\bar{Q}$=0,94 $\bar{w}$%=19,2±14,8 N=7	$\bar{Q}$=0,91 $\bar{w}$%=10,4±3,03 N=8	$\bar{Q}$=0,927 $\bar{w}$%=5,4±2,17 N=6	$\bar{Q}$=0,96 $\bar{w}$%=5,3±3,13 N=8
	t=1,54 p=0,08 ν=6,6	t=3,6 p=0,002 ν=12		① gegen ④ t=2,43 p=0,024 ν=6,6
UV-Dunkel-Versuche (UV gegen Dunkel)	$\bar{Q}$=0,974 $\bar{w}$%=2?,4±7,59 N=3	$\bar{Q}$=0,978 $\bar{w}$%=6,83±4,31 N=3		$\bar{Q}$=0,977 $\bar{w}$%=2,26±2,08 N=8
	t=3,69 p=0,0011 ν=4		t=1,76 p=0,10 ν=2,7	
Blau-Dunkel-Versuche (Blau gegen Dunkel)	$\bar{Q}$=0,851 $\bar{w}$%=47,6±12,78 N=15	$\bar{Q}$=0,861 $\bar{w}$%=12,2±6,32 N=21		$\bar{Q}$=0,824 $\bar{w}$%=8,7±3,08 N=7
	t=9,89 p=<0,0005 ν=19,6		t=2,02 p=0,03 ν=19,6	

*Die Versuchsbedingungen, welche sich auf die Testlichter beziehen (vertikale Spalte), sind auch hier wieder für die experimentelle Aussage unwichtig. Die unnotige Vielfalt dieser Bedingungen ergab sich zwangslaufig deshalb, weil nur Versuche mit ahnlichem Reaktionsquotienten Q fur einen Beweglichkeitsvergleich taugen und daher auf den gesamten Fundus an Vorversuchen zurückgegriffen werden mußte, um eine hinreichend große Menge an Daten zusammenzubringen. - Im übrigen gelten die Erklarungen zur Tabelle 2.

**Diese Nebenbeleuchtung ist in den Experimenten zur Gewinnung von Mutanten angewendet worden.

***Eine UV-Licht enthaltende Raumbeleuchtung, die entsteht, wenn die Verdunkelungskasten der Xenon-Lampen entfernt werden.

Hungern nicht selten über 20% - nicht von Beginn des Versuchs an die volle phototaktische Reaktion zeigt, habe ich also die Klimakammer relativ hell, mit einer 40 Watt Glühlampe, beleuchtet; den Apparat mit den Fliegen trifft dabei nur indirektes, diffus verteiltes Licht (Intensität im Bereich von 0,5-1,5 $\mu W/cm^2 sec$).
Zehn Minuten vor dem Versuchsbeginn wurden die Fliegen einer Gruppe, wie gesagt 100 an der Zahl, in die Ausgangsröhre der Phototaxismaschine hineingebracht, und zwar - ohne Betäubung - mit Hilfe eines Trichters, der vorübergehend an eine der beiden zugehörigen Endröhren angeschlossen wird. Die Xenonlampen brennen zu diesem Zeitpunkt bereits mindestens eine Viertelstunde, doch sind die Strahlengänge natürlich noch abgedeckt und die Wechselmechanik ist außer Betrieb. Die Versuchstiere sollen sich nun an ihre apparative Umwelt gewöhnen. Nach anfänglicher, mehr oder weniger stark ausgeprägter Apathie beginnen sie denn auch meist recht bald - bei einigen Stämmen aber erst nach 5-10 Minuten - in manchmal mäßiger, manchmal schnellerer Bewegung, nie jedoch erregt und selten matt oder träge, hin und her zu laufen, den ganzen ihnen zur Verfügung stehenden Raum der Hauptröhre und Nebenröhren gleichmäßig ausfüllend.
Jetzt endlich beginnt der Versuch, indem gleichzeitig die Strahlengänge beider Seiten geöffnet und die Wechselautomatik mit der Zeitgeberuhr angeschaltet werden. Sofort laufen die Fliegen - wenigstens die des Wildtyps -, in dichtem Zug, auf das ihnen heller erscheinende Reizlicht los - vorausgesetzt die Testlichter sind nicht zu ähnlich -, ballen sich erregt am beleuchteten Ende der Röhre, fangen aber häufig schon nach $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ Minute, ehe noch alle Tiere angekommen sind, an, wieder umzukehren. Eine Minute nach Versuchsbeginn wird der Rückstrom dann allmählich stärker als der Zustrom. Deshalb habe ich die Laufzeit, das ist die Dauer bis zum Seitenwechsel der Lichter, auf 1 Minute begrenzt, was in der Regel eine relativ schnelle Verfrachtung der Fliegen begünstigt und kurze Versuchszeiten möglich macht. Diesem Zweck dient auch die Beschränkung der Anzahl hinterein-

anderfolgender Läufe auf 14. Denn nur etwa in den ersten 10 Läufen zeigen die Versuchstiere gewöhnlich so schnelle und anhaltende phototaktische Reaktionen wie eben beschrieben, weshalb die sich am blinden Ende des Röhrensystems (in 3a/4a bzw. 3b/4b) anstauenden Fliegen nach etwa 15 Minuten, also 15 Läufen, nach und nach wieder in die jetzt weniger dicht besetzten mittleren Teile des Apparats zurückweichen. Insgesamt glaube ich, Laufzeit und Versuchszeit so gewählt zu haben, daß gut bewegliche, normal reaktive Tiere als Antwort auf deutlich verschieden attraktive Reizlichter in ziemlich kurzer Zeit stark asymmetrische Verteilungen - mit extrem von Null abweichendem Q -, liefern, wobei vor allem die Schnelligkeit der Reaktion, in gewissem Maße aber auch deren Beständigkeit - innerhalb desselben und in aufeinanderfolgenden Läufen - das Ergebnis entscheidend fördern.[1]

Nachdem die Versuchstiere 14 Läufe hinter sich gebracht

[1] In diesem Zusammenhang soll kurz, als Fußnote, die Frage angesprochen werden, um was für eine Art von Phototaxis es sich in der beschriebenen Versuchsanordnung eigentlich handelt. Heisenberg (1972) hat nach Kriterien der im wesentlichen apparativ bestimmten Reizsituation zwei Formen unterschieden: eine sog."schnelle Phototaxis", bei welcher die Fliegen in einem Zustand großer, z.B. durch Schütteln hervorgerufener Erregung einer Lichtquelle direkt und unverzüglich zueilen, und eine "langsame Phototaxis", die bewirkt, daß ganz sich selbst überlassene Tiere nach und nach, in fortwährend unterbrochener Reaktion, dort eintreffen, wo es am hellsten ist. Letzteres findet Heisenberg in der von ihm benutzten Apparatur verwirklicht, die an sich ja die gleiche ist wie meine. Dennoch dürfte das Verhalten, welches die Fliegen unter den in dieser Arbeit gewählten Bedingungen zeigen, eher demjenigen der schnellen Phototaxis entsprechen, also mehr den Reaktionen in Benzers Schüttelmaschine ähneln. Möglicherweise wirkt die Drehung der Endröhren auf die Fliegen als mechanischer Stimulus, der wegen der relativ geringen Laufzeit (bei Heisenberg dagegen 2-5 Minuten) direkt in die von der Apparatur erfaßte Lichtreaktion eingeht. Außerdem versetzen sich die ohnehin recht aktiven Versuchstiere selber gegenseitig fortwährend in Erregung, indem sie an den Röhrenenden in dichten Haufen zusammentreffen, ohne daß ihnen bis zum Wechsel der Testlichter die Zeit bleibt, wieder auseinanderzuweichen.

haben, wird die Apparatur, die sich jetzt wieder in der Ausgangsstellung befindet, angehalten. Die Fliegen können nun aus den einzelnen Röhren herausgeholt und gezählt sowie gegebenenfalls weiter verwendet werden. Währenddessen beginnen schon die Vorbereitungen für den nächsten Test, der unverzüglich anschließt. Auf diese Weise ist es möglich, in der zur Verfügung stehenden Zeit vormittags und nachmittags je vier Versuche pro Tag mit insgesamt 800 (maximal 1600) Fliegen durchzuführen.

Zum Schluß meiner Angaben zur experimentellen Praxis möchte ich noch dem Einwand begegnen, daß, wie bei vielen apparativen Verhaltenstests, Tendenzen im Verteilungsergebnis nicht nur durch die Asymmetrie der Testreize, sondern auch durch eine solche unbeabsichtigter Störfaktoren bedingt sein könnten, mögen diese nun auf Fehlern der Apparatur selbst oder auf der einseitigen Benutzung des Röhrensystems durch die Versuchstiere beruhen. Es ist üblich, mögliche experimentell unkontrollierte Verschiebungen dieser Art durch regelmäßige Vertauschung der richtungsgebenden Reize, in aufeinanderfolgenden Versuchen oder größeren Intervallen, wenigstens im Mittel auszugleichen bzw. ihnen vorzubeugen. Ich habe das ebenfalls getan, und zwar, in halbtägigem oder täglichem Wechsel, unter Ausnutzung aller vier Umkehrmöglichkeiten: durch Vertauschung der Interferenzfilter zwischen den Haltern der rechten und linken Seite oder auch innerhalb der Halter derselben Seite. Auf solche Weise kann sowohl die Hälfte des Röhrensystems, nach welcher die Fliegen sich durch den attraktiveren Lichtreiz befördern lassen, gewechselt werden, als auch die dem subjektiv helleren Reiz folgende Hauptlaufrichtung in allen Röhren. - Im übrigen ist die Apparatur von Zeit zu Zeit mit destilliertem Wasser gereinigt worden.

Im nächsten Abschnitt, dem letzten, welcher sich mit rein methodischen Dingen befaßt, will ich darlegen, welche praktischen Schritte zur Gewinnung von Mutanten im Wulf'schen Phototaxisapparat unternommen worden sind.

§) Schritte zur Gewinnung von Mutanten im Phototaxisapparat

Schon früher habe ich festgestellt, daß die Arbeitsweise des Phototaxisapparats, seine Methode der quantitativen Erfassung von Lichtreaktionen, es notwendig macht, die Gewinnung von Mutanten grundsätzlich in zwei Stufen vorzunehmen, die man als "Isolierung" und "Identifizierung" bezeichnen könnte. Die gleiche Zweiteilung des Verfahrens ist nun natürlich auch aus genetischen Gründen geboten, weshalb ich dessen detailliertere Beschreibung ebenfalls in zwei Abschnitte gliedern möchte.

1. Die Isolierung von F_1-Männchen mit deutlich verminderter UV-Reaktion, also die erste Stufe der Mutantengewinnung, ist zugleich der Angelpunkt des gesamten Verfahrens. Ihre Wirksamkeit bestimmt zumindest den Arbeitsaufwand in der zweiten Stufe. Denn im Prinzip wäre es zwar möglich, ganz unter Verzicht auf Isolierungsschritte, die Nachkommenschaft jedes F_1-Männchens zu überprüfen; doch dürfte das wegen der relativ geringen Häufigkeit der gesuchten Mutanten sehr mühsam sein (bei acht Tests pro Tag würde die Untersuchung von 8500 Nachkommenschaften etwa vier Jahre dauern). Und deshalb ist es eben für die Durchführbarkeit der hier beschriebenen Unternehmung von sehr großer Bedeutung, in einer ersten Stufe von Phototaxistests auf effektive Weise die Masse der normalen Fliegen auszuscheiden und diejenigen Individuen herauszufinden, welche hinreichend abnorme Lichtreaktionen zeigen, um eine genauere Untersuchung ihrer Nachkommenschaft in der zweiten Stufe lohnend erscheinen zu lassen. Bei dieser Vor-Auswahl unter den F_1-Fliegen wird - dank der oben erläuterten Kreuzungsmethodik - die Möglichkeit nutzbar, in einem einzigen Verteilungsversuch viele, potentiell verschiedenartige genetische Linien - jede repräsentiert durch nur <u>ein</u> Individuum - gleichzeitig prüfen zu können; zwangsläufig muß man allerdings den Nachteil in Kauf nehmen, daß die Charakterisierung des Verhaltens der Einzeltiere im Verteilungsergebnis relativ unzuverlässig ist, also echte Mutanten manchmal auch unerkannt bleiben und voreilig ausgeschieden werden.

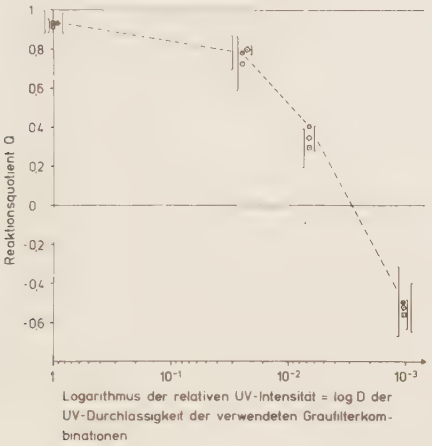
Wie aber trifft man die Auslese auf wirksame Weise, nämlich so, daß sich unter einer tragbaren Zahl von Kandidaten möglichst viele Mutanten befinden? Grundsätzlich zunächst werden, wie schon gesagt, alle Tests zur Gewinnung von UV-schwachen Mutanten als UV-Blau-Versuche durchgeführt. Auf der Isolierungsstufe des Verfahrens geschieht das mit dem Ziel, die normalen Fliegen durch das für sie sehr attraktive UV-Licht anzulocken und so von denjenigen Tieren abzutrennen, die zwar in ihrer Phototaxis an sich normal sind, jedoch eine verminderte UV-Empfindlichkeit besitzen, infolgedessen also eher zum blauen Reizlicht hintendieren.[1] Die Wirksamkeit dieser Trennmethode hängt nun zweifellos von der relativen Attraktivität des UV-Lichts ab, d.h. - bei gegebenen Wellenlängen der Reizlichter - von dessen Intensität: je höher, bei gleichbleibender Helligkeit des Blaulichts, die UV-Intensität, umso extremer (für Normaltiere) die Verschiebung des Verteilungsergebnisses im Sinne einer zunehmend uneingeschränkteren Bevorzugung des UV-Reizes (Q→1); und im gleichen Maße verkleinert sich die Wahrscheinlichkeit, daß die in die Blau-Hälfte des Apparats gelangten Fliegen eben doch nur "Irrläufer" mit normal UV-empfindlicher Phototaxis sind. (In Verteilungen mit einem Reaktionsquotienten von Q = 0,98 würde von 100 Wildtypfliegen im Durchschnitt nur eine einzige zum Blauen laufen). Dennoch erschien es mir nicht günstig, die UV-Blau-Versuche, wie Frau Wulf es tat, bei möglichst hoher UV-Intensität durchzuführen, weil auf diese Weise zwar Fliegen, denen jede UV-Reaktion fehlt, verhältnismäßig schnell gefunden werden könnten, solche mit nur verminderter Stärke der Reaktion jedoch vom Wildtyp vermutlich kaum zu unterscheiden wären. Mutanten der zuerst genannten Art aber, so dachte ich aufgrund der relativ geringen Erfolge meiner Vorgängerin, gibt es vielleicht gar nicht oder sind mit den hier verwendeten Mitteln nicht zu finden. Deshalb habe ich für den Phototaxistest im UV-Blau-Versuch Intensitätsverhältnisse gewählt, die bei normalen Fliegen im Durchschnitt

[1] Eine davon nicht zu unterscheidende Reaktion fände man natürlich bei Fliegen mit erhöhter Blau-Empfindlichkeit, falls es solche Tiere gibt.

nicht zu nahezu absoluter, sondern gerade noch ausreichend deutlicher Bevorzugung des UV-Reizes führen. Das setzt natürlich eine genaue Kenntnis der Intensitätsabhängigkeit des Verteilungsverhaltens im UV-Blau-Versuch voraus. Die Abb. 5 zeigt das Ergebnis einer von mehreren, mit Wildtypfliegen durchgeführten Versuchsreihen, die sich mit dieser Frage befassen. Daraus geht hervor, daß eine Abschwächung der in der Apparatur maximal erreichbaren Helligkeit des UV-Lichts um eineinhalb Zehnerpotenzen - bei konstanter, größtmöglicher Blau-Intensität - nur eine verhältnismäßig geringe Abnahme der mittleren Bevorzugung des UV-Reizes zur Folge hat (Q sinkt von 0,93 bei D=1 auf 0,79 bei $D=2{,}5\cdot10^{-2}$); eine weitere Verminderung der UV-Intensität läßt den Reaktionsquotienten Q dann allerdings ziemlich schnell gegen Q = 0 gehen und schließlich negative Werte annehmen. Eine solche Reaktionsintensitätsfunktion legt natürlich nahe, die Phototaxisversuche zur Gewinnung von Mutanten unter Bedingungen durchzuführen, wie sie im Übergangsbereich vom flacheren zum steileren Teil der Kurve herrschen. Die meisten Tests habe ich daher bei maximaler Blau- und um den Faktor $D = 2{,}5\cdot10^{-2}$ abgeschwächter UV-Intensität vorgenommen, eine kleinere Anzahl späterer Versuche bei $D = 1{,}0\cdot10^{-2}$.
Die Wahl relativ niedriger UV-Intensitäten bedingt nun freilich, daß nicht nur eine größere Anzahl von Mutanten, sondern auch mehr Normaltiere in die Blau-Hälfte des Apparats gelangen: in Verteilungen mit einem Q von 0,75 (wie ich sie unter den genannten Bedingungen im Mittel erhalten habe) sind das immerhin 12% aller Wildtypfliegen. Damit wäre zwar eine gewisse Anreicherung von Mutanten bewirkt - d.h. man fände unter denjenigen Tieren, die aus den Röhren IIb - 4b ausgelesen würden, mit größerer Wahrscheinlichkeit Mutanten als in der Ausgangsgruppe -, doch ist der erzielte Effekt noch zu gering, als daß sogleich die Identifizierungsstufe des Verfahrens angeschlossen werden könnte. Daher schien es mir - bei Verzicht auf maximale UV-Intensitäten - notwendig, mehrere Anreicherungsschritte hintereinanderzuschalten und zugleich die Auslese innerhalb jedes einzelnen Schrittes

Abbildung 5

Reaktions-Intensitäts-Funktion im UV-Blau-Versuch bei konstanter (maximaler) Blau- und variabler UV-Intensität



Versuche mit Männchen dreier XXY-Stämme mit dem genetischen Hintergrund von Berlin ⊡, Oregon ⊙, Sevelen ◇. Die graphische Darstellung gibt die Mittelwerte von je 2-6 Versuchen wieder, sowie die einfache Standardabweichung (±s) des Mittelwerts (diese ist in einem Fall kleiner als das eingetragene Symbol).

Die maximal erreichbare Helligkeit der beiden Reizlichter ist durch die Stärke und spektrale Intensitätsverteilung der Xenonlampen sowie durch die Transmission der Interferenzfilter vorgegeben. Messungen mit einem Optometer der Firma United Detector Technology (Santa Monica, USA) ergaben Werte von durchschnittlich 32$\mu W/cm^2 sec$ für Blau und 10$\mu W/cm^2 sec$ für UV, und zwar dort, wo das Licht auf die Endröhren der Apparatur auftrifft. In gleicher Weise wurde auch die Abschwächung der UV-Intensität durch bestimmte Graufilterkombinationen, also deren Durchlässigkeit D, direkt in der Versuchsanordnung bestimmt. Man muß sich aber darüber im klaren sein, daß die genannten Meßwerte nicht den im Inneren der Versuchsröhren herrschenden Lichtintensitäten entsprechen. Diese lassen sich, der Natur des Phototaxisapparats gemäß, präzise überhaupt nicht angeben. Auch blieb bei den Messungen die Nebenbeleuchtung außer acht. Dennoch - soviel wird immerhin deutlich - bedarf es unter den gewählten Bedingungen, um die Fliegen wirksam anzulocken, zweifellos wesentlich geringerer UV- als Blau-Intensitäten. Das UV-Licht erweist sich damit als das für die Versuchstiere weitaus attraktivere, ein seit den Experimenten von Bertholf (1932) immer wieder erhobener (allerdings nur für ein nicht sehr niedriges Beleuchtungsniveau geltender) Befund.

zu verschärfen. Ich habe das routinemäßig nach folgendem Schema getan: Jeden Tag, wenn F_1-Fliegen zur Verfügung standen, wurden sieben Versuchsgruppen zu je 150-200 Fliegen unter den beschriebenen Bedingungen getestet und alle Individuen mit überwiegender Blau-Tendenz, die sich nach Versuchsende in den Röhren IIIb und 4b (sowie natürlich den zugehörigen Endröhren) befanden, zu einer gemeinsamen Gruppe zusammengefaßt. Diese Fliegen wurden dann am Abend des nächsten Tages (nachdem sie ausreichend gefressen und dann wieder gehungert hatten) in einem weiteren, gleichartigen Schritt - jetzt in einem einzigen Versuch vereinigt - zum zweitenmal getestet und eine erneute Auslese auf dieselbe Weise getroffen wie schon zuvor. Schließlich mußten die übriggebliebenen Tiere, wiederum einen Tag später, noch einen dritten Versuch über sich ergehen lassen. Die endgültige "Isolierung" von Individuen mit überwiegender Blau-Tendenz in drei Anreicherungsschritten an verschiedenen Versuchstagen erfolgte in diesem letzten Test der ersten Stufe nicht nur aus den Röhren IIIb und 4b, sondern auch aus IIb und, gelegentlich, sogar aus I.
Die auf solche Weise ausgelesenen Fliegen galten nun als hinreichend verdächtig, durch ihr Verhalten im UV-Blau-Versuch von Tieren mit normalen phototaktischen Reaktionen abzuweichen. Doch besteht, wie schon betont, eine ausreichende statistische Sicherheit nicht. Außerdem bleibt unentschieden, ob die vermutete Anomalie genetischen Ursprungs ist oder modifikativ. Klarheit bringen in beiden Hinsichten erst die Versuche der Identifizierungsstufe.
2. Die von den ausgesonderten F_1-Männchen abgeleiteten genetischen Linien (Stämme) können von der zweiten Nachkommenschaft ab gründlich auf ihr Verhalten im UV-Blau-Versuch getestet werden. Das geschieht unter den früher beschriebenen Standardbedingungen sowie den für die Isolierungsschritte für günstig befundenen Intensitätsverhältnissen. Eine "Identifizierung" eines bestimmten Stamms als Mutante der hier gesuchten Art liegt dann vor, wenn Versuchsgruppen verschiedener Generationen Verteilungsergebnisse liefern, die

von denen des Ausgangsstamms - unter vergleichbaren Bedingungen gewonnen - übereinstimmend und insgesamt signifikant abweichen ($\bar{Q}_{Mutante} < \bar{Q}_{Kontrolle}$). Dieser Nachweis, obgleich routinemäßig zu erbringen, ist natürlich umso aufwendiger, je geringfügiger sich eine Mutante vom Wildtyp unterscheidet. In solchen Fällen ergibt sich auch für die Identifizierungsstufe ein Verfahren in mehreren Schritten. Die nun folgende Darstellung der Ergebnisse wird das im einzelnen zeigen.

3) Ergebnisse

Nachdem ich Ziele und Methoden des ersten Teils meiner Arbeit ausführlich beschrieben und erläutert habe, kann ich mich nun ganz der Aufzählung dessen zuwenden, was in den angekündigten Versuchen wirklich gefunden worden ist. Eine Gliederung ergibt sich dabei zwanglos aus den bereits genannten methodischen Schritten des experimentellen Verfahrens.

a) Ergebnisse der Versuche mit der ersten Nachkommenschaft (Isolierungsstufe)

Die Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Versuche mit der ersten Nachkommenschaft EMS-behandelter Fliegen; gegenübergestellt werden die Resultate von Kontrollversuchen mit Tieren des Ausgangsstamms (O_{11}). Um das Verständnis der Tabelle zu erleichtern, sei, stellvertretend für das Ganze, ihre erste Zeile vollständig erläutert. Im Anreicherungsschritt I also sind 101 Versuche mit jeweils 150-200, durchschnittlich 172 Fliegen durchgeführt worden. Die Anzahl der Tiere aller Versuche beträgt folglich insgesamt mehr als 17000, von denen sich allerdings nur 14837 über die UV- und Blau-Hälfte des Röhrensystems (die Elemente II bis 4) verteilt hatten, während von dem Rest, 2516 nach Testende in der Ausgangsröhre I vorgefundenen Tieren, unklar bleibt, ob sie eine Reaktion auf die Reizlichter gezeigt haben oder nicht. Diese vereinfachend als "unbeweg-

Tabelle 4

Verteilungsergebnisse der UV-Blau-Versuche mit Männchen der 1. Nachkommenschaft
Durchführung der Versuche bei maximaler Intensität des blauen Testlichts und um den Faktor $D = 2{,}46 \cdot 10^{-2}$ abgeschwächter UV-Intensität

	An-reicherungs-schritt	Anzahl der Versuche	mittlere Zahl der Tiere pro Versuchsgruppe	Gesamtzahl der "beweglichen" Tiere (Röhren II, III u. 4)	Anzahl der "unbeweglichen" Tiere (Röhre I) Gesamt-zahl	$\bar{w}\% \pm s$ mittl. Zahl in % pro Versuch	$\bar{Q} \pm s$ mittl. Reaktionsquotient	Gesamtzahl der ausgesonderten Tiere	Gesamtzahl der endgültig isolierten Tiere	Anteil der ausgesonderten Tiere*	$S_{ges.}$**
F_1 EMS-behandelter Tiere	I	101	171,8	14837	2516	14,90±5,05	0,532±0,081 N=98	1615		0,109	0,0931
	II	17	91,3 N=16	1293	176	12,49±4,19 N=16	0,297±0,111 N=16	264	57	0,204	0,180 N=16
	III	11	17 N=10	146	30	18,99±10,16 N=10	-0,301±0,423 N=10	89	84	0,610 (0,376)	0,506 (0,312)
Stamm O11	-	9	200	1650	137	7,68±2,40	0,740±0,072				

141
Gesamtzahl der isolierten Tiere $\frac{141}{14837} = 0{,}95\%$***

Statistischer Vergleich der Mittelwerte

a) von w% (Spalte 6)
Zeile 1 gegen Zeile 4 : $t=7{,}64$ $p<0{,}0005$ $\nu=17{,}2$
Zeile 1 gegen Zeile 2 : $t=1{,}84$ $p=0{,}04$ $\nu=23{,}5$

b) von Q (Spalte 7)
Zeile 1 gegen Zeile 4: $t=8{,}27$ $p<0{,}0005$ $\nu=10{,}5$
Zeile 1 gegen Zeile 2: $t=8{,}14$ $p<0{,}0005$ $\nu=18{,}1$
Zeile 2 gegen Zeile 3: $t=4{,}38$ $p=0{,}0009$ $\nu=10$

*Der Anteil der ausgesonderten Tiere wird berechnet als $\frac{\text{Anzahl der ausgesonderten Tiere (Spalte 8)}}{\text{Gesamtzahl der "beweglichen" Tiere (Spalte 4)}}$. Die Werte zeigen den Anreicherungserfolg an. - In Klammern - der Vergleichbarkeit mit den Schritten I und II wegen - der Anteil der in den Röhren IIIb und 4b gefundenen Individuen.

**$S_{ges.} = \frac{\text{Anzahl der ausgesonderten Tiere (Spalte 8)}}{\text{Anzahl aller Versuchstiere (Spalten 4 u. 5)}}$ Diese Größe wird erst später verwendet.

***Prozentuale Häufigkeit der endgültig ausgesonderten Fliegen bezogen auf die Zahl der im ersten Anreicherungsschritt "beweglich" gewesenen Tiere. - In dem angeführten Wert sind die Versuche sämtlicher Anreicherungsserien, mit zwei und drei Schritten, zusammengefaßt. Berücksichtigt man nur Serien mit drei Schritten und bezieht die Anzahl der in allen drei Schritten in die Röhren IIIb und 4b gelangten Tiere auf die Zahl der im ersten Schritt "beweglichen", so ergibt sich ein Wert von 0,51%. Dies bedeutet, daß sich unter 200 F_1-Männchen eines hat finden lassen, das in allen drei UV-Blau-Versuchen durch ein deutliches Überwiegen der Blau-Reaktion charakterisiert war.

lich" charakterisierte Klasse von Fliegen macht im Mittel 14,9% jeder Versuchsgruppe aus (zur Bedeutung der Größe w% erinnere man sich an die Erläuterung der Tab. 1). Es folgt dann in der Tabelle der mittlere Reaktionsquotient $\bar{Q} = 0{,}532$, der deutlich macht, daß die "beweglichen" Tiere des ersten Anreicherungsschritts im Durchschnitt eine immerhin recht deutliche UV-Reaktion aufwiesen. Doch sind 1615 Individuen, ein Anteil von 0,109, in die Röhren IIIb und 4b der Blau-Hälfte gelangt und wurden deshalb von den übrigen abgetrennt, um in 17 Versuchen des zweiten Anreicherungsschritts ein weiteres Mal geprüft zu werden. Hier zeigten jetzt nur noch 264 Tiere, das sind 20,4% der "beweglichen", die geforderte Blau-Reaktion. Von diesen habe ich 57 bereits als Anwärter für die Identifizierungsstufe verwendet (weil ich am Anfang der Versuche mit zwei Anreicherungsschritten auszukommen glaubte) und die übrigen dem dritten Anreicherungsschritt unterzogen, in welchem sich dann 89 Individuen (= 61,0%) durch eine befriedigende Blau-Tendenz auszeichneten (fünf davon gingen allerdings verloren).

Eine über die bloße Beschreibung der Zahlen hinausgehende Beurteilung der Ergebnisse beginnt vielleicht zweckmäßigerweise damit, das Verhalten des Kontrollstamms (in der letzten Zeile erfaßt) mit dem der unselektionierten ersten Nachkommenschaft (erste Zeile) zu vergleichen. Schon bei der Durchführung der Versuche fiel mehreres auf. Zunächst sind die Fliegen der F_1, was ja auch nicht überrascht, im Durchschnitt merklich weniger vital: 7% der für Versuche gesammelten Tiere starben, ehe es zum Test kam (diese bleiben in der Tabelle natürlich unberücksichtigt), beim Stamm O_{11} dagegen nur etwa 0,7%. Aber auch im Versuch selbst bietet die F_1 kein erfreuliches Bild. Häufig z.B. sieht man in der Ausgangsröhre eine ganze Reihe von Fliegen völlig unbeweglich sitzen bleiben, und der statistische Vergleich von w% in Spalte 6 bestätigt in der Tat eine verminderte Beweglichkeit; doch sind es nicht etwa nur einzelne Individuen, die sich durch ein Fehlverhalten von einer "Masse der Normalen" unterscheiden, vielmehr erscheinen sämtliche Tiere der Ver-

suchsgruppen meist gar nicht richtig normal, sondern matt und träge in ihren Bewegungen, wenig geordnet und schleppend in der UV-Reaktion. Offensichtlich ist die Wirkung des Mutagens auf das Verhalten der ersten Nachkommenschaft ganz beträchtlich. Deshalb überrascht es auch nicht, wenn $\bar{Q}$ hier hochsignifikant niedriger ist als beim Wildtyp, und zwar um einen Betrag, der sich durch ein paar Mutanten mit erhöhter Blau-Tendenz sicherlich nicht erklären läßt. Die Frage muß vorerst offen bleiben, ob das auf unspezifischen Verhaltensanomalien beruht, oder eine größere Zahl von "Farbreaktionsmutanten" im Spiel ist.

Als nächstes möchte ich auf die Veränderungen hinweisen, die in den einzelnen Anreicherungsschritten am Verteilungsverhalten der F_1-Männchen sichtbar werden. Von besonderem Interesse ist hier der Reaktionsquotient $\bar{Q}$. Daß dieser in den Versuchen des zweiten Schritts hochsignifikant absinkt, entspricht der Erwartung. Doch muß man fragen, warum nicht noch wesentlich niedrigere, vielleicht sogar negative Werte von Q erreicht werden, weshalb also diejenigen Versuchstiere, welche im ersten Schritt des Verfahrens anscheinend mehr dem Blaulicht zuneigten, im zweiten größtenteils eine, auch bei direkter Beobachtung des Verhaltens eindeutig erkennbare Bevorzugung des UV-Reizes zeigen. Zwei Erklärungen bieten sich zunächst an: entweder ändern viele Fliegen ihre Reaktionstendenz, oder der Verteilungsort, den eine einzelne Fliege im Phototaxistest erreicht, gibt über die wahren phototaktischen Ambitionen des betreffenden Tieres eine noch weniger zuverlässige Auskunft als eigentlich vermutet. Immerhin jedoch ist - korrespondierend mit der Abnahme von $\bar{Q}$ - der Anteil der in den Röhren IIIb und 4b vorgefundenen Individuen im zweiten Anreicherungsschritt auf etwa das Doppelte gestiegen (vorletzte Spalte), was einen gewissen Anreicherungserfolg vermuten läßt. Das bestätigt sich im dritten Schritt, wo der Anteil der Fliegen in den Röhren IIIb und 4b nochmals auf fast das Doppelte steigt, Q in der Tat überwiegend negative Werte annimmt und eine deutliche Blaureaktion im Verhalten der meisten Tiere auch direkt sichtbar ist. Un-

ter den Männchen der ersten Nachkommenschaft hat sich also eine relativ kleine Gruppe von Fliegen finden lassen (unter 1000 eingesetzten Tieren etwa 5), die im Phototaxistest eine dominierende UV-Reaktion nicht zu erkennen geben, wohl aber eine deutliche Anlockung durch Blaulicht zu zeigen scheinen. Die Versuche mit der Nachkommenschaft dieser Fliegen werden erweisen, was es mit ihnen wirklich auf sich hat. Bevor ich jedoch mit der Darstellung der Verteilungsergebnisse beginne, sei kurz die Tabelle 5 erwähnt, die darüber Auskunft gibt, mit welchem Erfolg die 141 isolierten F_1-Männchen der Tabelle 4 zur Gewinnung stabiler genetischer Linien mit attached-X-Weibchen gekreuzt worden sind. Wie man sieht, blieben 26 Tiere, das sind 18,4% entweder selber oder in ihren Nachfahren unfruchtbar oder ohne männliche Nachkommenschaft, ein ziemlich hoher, sicher noch durch das Mutagen zumindest mitbedingter Anteil. Im folgenden soll nun berichtet werden, was die Phototaxistests mit den restlichen 114 Linien (eine verschwand noch spurlos) ergeben haben.

b) Ergebnisse der Versuche mit Nachkommenschaften isolierter F_1-Männchen (Identifizierungsstufe)

Die Abbildung 6 gibt zunächst einen Überblick über die Verteilungsergebnisse der Phototaxistests mit der zweiten Nachkommenschaft, im Vergleich zu den Ergebnissen entsprechender Versuche mit dem Ausgangsstamm. Offensichtlich hat die Weiterzucht ausgewählter, Blaulicht bevorzugender F_1-Männchen in der Gesamtpopulation der F_2 zwar nicht zu einer radikalen Veränderung, wohl aber zu einer deutlichen Verschiebung der mittleren Reaktionstendenz geführt: wenn auch der Quotient Q von mehr als einem Drittel der Stämme im Streuungsbereich der Kontrolle liegt, so weist doch ein etwa ebenso großer Teil ein sich kontinuierlich anschließendes Spektrum kleinerer Werte auf, und eine Reihe von Linien scheint sich sogar durch eine, teilweise extreme, Blau-Tendenz auszuzeichnen. Welcher Stamm hier im einzelnen wirklich auf eine Mutante zurückgeht und welcher aus anderen

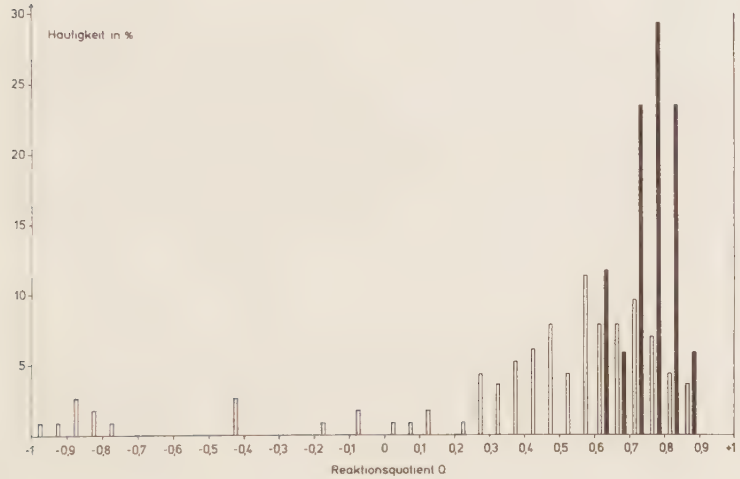
Tabelle 5

Übersicht über das Schicksal der durch die isolierten F_1 ♂♂ begründeten genetischen Linien

Kreuzungs-erfolg	F_1 ♂ gestorben	keine F_2 (F_1 ♂ steril)	F_2 ohne ♂♂ (Letalfaktor auf dem X-Chromosom)	keine F_3	F_2 u. F_3 fast ohne ♂♂ (Subletalfaktor auf dem X-Chromosom)	erfolgreiche Kreuzung Haltung als Stamm	
Anzahl der F_1 ♂♂	1	15	5	4	1	115	141
		nicht testbare genetische Linien 26 = 18,4%				getestete Linien	

Abbildung 6

Häufigkeitsverteilung des Reaktionsquotienten Q für die Ergebnisse der zweiten Nachkommenschaft im Vergleich zum Wildtyp



Die Anzahl der Kontrollversuche mit dem Stamm O_{11} (schwarze Säulen) betrug 17, die Zahl der in der F_2 getesteten genetischen Linien (weiße Säulen) 114. Bei den meisten dieser Stämme wurde jeweils nur ein Versuch durchgeführt; lagen mehrere Versuche vor, wurde für das Histogramm der Mittelwert $\bar{Q}$ verwendet.

Gründen, vielleicht auch nur vorübergehend und zufällig, vom Normalen abweicht, kann natürlich nicht - oder höchstens in einigen extremen Fällen - durch ein bis zwei Versuche in nur einer einzigen Nachkommenschaft entschieden werden. Die Identifizierung von Mutanten im UV-Blau-Test stellt daher zwangsläufig wieder - nunmehr auf höherer Ebene - ein in Schritte gegliedertes Auswahlverfahren dar: Stämme mit anscheinend normaler Reaktion müssen Schritt für Schritt ausgeschieden, solche mit deutlich verändertem Verhalten und vor allem diejenigen, deren Zuordnung noch unklar ist, in der jeweils nächsten Generation weitergeprüft werden. Diesen Gang der Dinge von der zweiten bis zur sechsten Nachkommenschaft dokumentieren die Tabellen 6-9. Bei der Erläuterung der Einzelheiten beginne ich, der Einfachheit halber, mit den Ergebnissen der als normal ausgeschiedenen Linien.

α) Eliminierung der Stämme ohne deutliche Veränderung des Verhaltens im UV-Blau-Test

Die Ergebnisse der Versuche mit der zweiten Nachkommenschaft sind, soweit sie sich auf ausgeschiedene Stämme beziehen, in der Tabelle 6 zusammengefaßt. Aus dieser geht hervor, daß 44 von den insgesamt 114 Linien, also 38,6% bereits in der F_2 als "normal" klassifiziert wurden, und zwar hinsichtlich des Äußeren der betreffenden Fliegen, ihres allgemeinen Verhaltens wie insbesondere ihrer UV-Blau-Reaktion. Notgedrungen mußte eine solche Festlegung allerdings in vielen Fällen wegen der kontinuierlichen Variation (siehe Abb. 6) und der statistischen Unsicherheit von Q im Grunde willkürlich bleiben. Ich bin einfach nach folgendem Kriterium vorgegangen: Stämme mit einem durch $Q > 0{,}60$ gekennzeichneten Verteilungsergebnis sollten als normal gelten, diejenigen mit $Q < 0{,}5$ wurden für deutlich verändert angesehen; und in den dazwischen liegenden Fällen (bei 18 Stämmen) habe ich rein gefühlsmäßig mal in der einen, mal in der anderen Weise entschieden. Das Resultat dieses nur begrenzt pragmatischen Vorgehens findet man in dem Histogramm zur Tabelle 6. Vielleicht verbirgt sich unter den ausgeschiedenen Stämmen doch noch die eine oder andere Linie mit aus genetischen Ursachen -

Tabelle 6

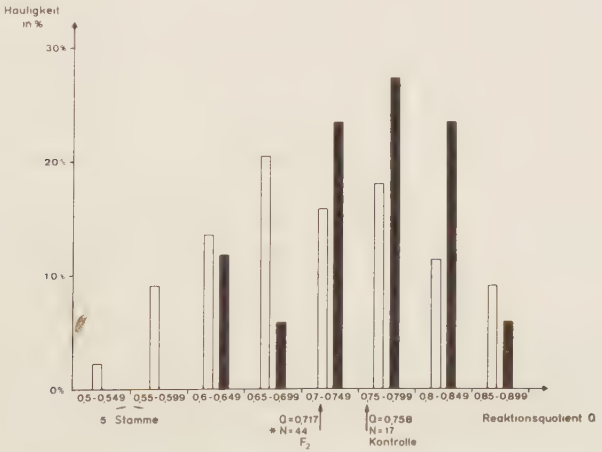
Zusammenfassung der Ergebnisse der in der zweiten Nachkommenschaft ausgeschiedenen Stämme $D_{UV} = 2,46 \cdot 10^{-2}$

		$\bar{Q} \pm s$	N	
Kontrolle (O_{11})		0,758 ± 0,074	17	Zahl der Versuche
Stamme (F_2)	ausgeschieden	0,717 ± 0,094	44	Zahl der Stamme*
	weitergezogen	Q < ungefähr 0,6 oder sonstwie verändert	114 - 44 = 70	

*mit den meisten Stämmen wurde nur ein Versuch gemacht

Histogramm zur Tabelle 6

Häufigkeitsverteilung von Q der in der zweiten Nachkommenschaft ausgeschiedenen Stämme (weiße Säulen) im Vergleich zum Wildtyp O_{11} (schwarze Säulen).



*in den wenigen Fällen, in denen bei einem Stamm mehr als ein Versuch gemacht worden ist, wird der Mittelwert dieser Versuche verwendet.

relativ geringfügig - veränderter Reaktionstendenz. Aber schließlich war es nicht der Sinn meiner Arbeit, mich im Nachweis der Normalität möglichst vieler Stämme zu verzetteln, sondern es ging vor allem um die sichere Identifizierung von wenigstens ein paar Mutanten; hierfür schien es auch außerhalb des unmittelbaren Überlappungsbereichs zwischen normalem und abnormem Verhalten eine genügend große Anzahl von Anwärtern zu geben (Abb. 6).

Der nächste Schritt der Eliminierung, in der dritten Nachkommenschaft, führte zum Verlust weiterer 18 Stämme (Tab. 7a und b). Bei acht von ihnen lag Q in der F_2 zwischen 0,5 und 0,6, bei neun zum Teil sogar noch wesentlich niedriger, während nun in der F_3, wo mit einer mittlerweile angewachsenen Fliegenzahl bereits mehrere Tests pro Stamm möglich waren, die Durchschnittswerte das festgesetzte Niveau von 0,6 mehr oder weniger deutlich überschritten. In einigen Fällen (bei den Stämmen 8-11 und 15-17 der Tabelle 7b) ist der Unterschied zwischen den Verteilungsergebnissen der zweiten und dritten Nachkommenschaft sogar erstaunlich groß. Dies zeigt einerseits, mit welch hoher, umweltbedingter Streuung von Q gerechnet werden muß, z.B. aufgrund oder in Verbindung mit einer unterschiedlichen Beweglichkeit der Versuchsgruppen (1, 3; 9, 15, 17); andererseits ist aber auch eine genetische Veränderung der Stämme im Verlauf der Generationen denkbar.

In der vierten Nachkommenschaft schließlich sind nur noch zwei Stämme ausgeschieden worden (Tab. 8). Deren Q-Werte waren von Generation zu Generation angestiegen, um zuletzt diejenigen der Kontrolle fast zu erreichen oder sogar zu übertreffen. Ob das eine Sache des Zufalls ist oder nicht, läßt sich wohl nicht mehr entscheiden.

Insgesamt haben also 64 der ursprünglich 114 Linien isolierter F_1-Männchen, d.h. etwas mehr als die Hälfte, die in sie gesetzte Hoffnung auf stabile Mutanten mit Veränderung der UV-gegen-Blau-Reaktion nicht erfüllt. Eine Bewertung dieser Zahl dürfte nicht sinnvoll sein, ehe ich nicht dargelegt habe, was an den übrigen 50 Stämmen anders ist als normal.

Tabelle 7

Ergebnisse der in der dritten Nachkommenschaft ausgeschiedenen Stämme $D_{UV} = 2{,}46 \cdot 10^{-2}$

a) Zusammenfassung der Ergebnisse der F_3

		$\bar{Q} \pm s$	N	
Kontrolle (O_{11})		0,707 ± 0,089	22	Zahl der Versuche
Stämme (F_3)	ausgeschieden	0,486 ± 0,058	18	Zahl der Stämme
	weitergezogen	$Q \geq 0{,}6$ oder sonst verändert	70 - 18 = 52	

b) Nach Stämmen aufgeschlüsselte Ergebnisse der F_2 und F_3

Stamm	Q bzw. $\bar{Q}(F_2)$		$\bar{Q}(F_3)$	
1★	0,476	N=2	0,656	N=2
2	0,588	2	0,663	2
3★	0,487	2	0,628	2
4	0,582	1	0,639	1
5	0,582	1	0,662	4
6	0,625	1	0,639	1
7	0,584	1	0,601	3
8	0,377	1	0,64	2
9	0,486 •	1	0,737	2
10	0,292	1	0,677	4
11	0,365	1	0,753	1
12	0,506	1	0,645	3
13	0,556	1	0,740	2
14	0,57	1	0,753	2
15	0,367 •	1	0,730	5
16	0,263	1	0,632	4
17	0,25 •	1	0,746	3
18	0,582	1	0,800	2

★ Beweglichkeit des Stamms häufig geringer als normal

• Versuch, in dem die Fliegen weniger beweglich waren als sonst bei diesem Stamm

Tabelle 8

Ergebnisse der in der vierten Nachkommenschaft ausgeschiedenen Stämme

Stamm	D_{UV}= $2{,}46 \cdot 10^{-2}$		D_{UV}= $1{,}0 \cdot 10^{-2}$	
	$\bar{Q}$ (F_2)		$\bar{Q}$ (F_3)		$\bar{Q}$ (F_4)	
Kontrolle (O_{11})	0,785	N=17	0,707	N=22	0,685	N= 6
19	0,324 •	1	0,581	2	0,731	1
20	0,452	2	0,533	1	0,62	2

ausgeschieden: 2

weitergezogen: 52 - 2 = 50

• Versuch, in dem die Fliegen weniger beweglich waren als sonst bei diesem Stamm

β) Identifizierung von Stämmen mit veränderter Reaktion im UV-Blau-Versuch

Die Ergebnisse sämtlicher Stämme mit genetisch stabilen, als in irgendeiner Hinsicht nicht normal angesehenen Eigenschaften enthält Tabelle 9a und 9b. Es werden dort sieben Gruppen unterschieden (Spalte 1), denen die einzelnen Stämme (Spalte 2) aufgrund ihrer besonderen Merkmale zugeordnet sind. Ich möchte diese Gruppen der Reihe nach aufzählen und erläutern.

1. Die erste Gruppe umfaßt sechs Augen- oder Flügelmutanten - dies, obgleich die jeweils zugehörigen F_1-Männchen normal schienen -, von denen eine (C_7) offensichtlich durch einen autosomalen, die übrigen durch einen X-chromosomalen Effekt bedingt sind (Spalte 3). Ich führe die genannten Stämme hier nur der Vollständigkeit wegen an; sie dürften, zumal schwerwiegende Anomalien des phototaktischen Verhaltens nicht vorzuliegen scheinen, im Zusammenhang meiner Arbeit von geringerem Interesse sein.

2. Es folgen in der zweiten Gruppe je eine weitere Augen- und Flügelmutante. Doch ist bei ihnen auch das Verhalten stark betroffen, indem die Fliegen beider Stämme im UV-Blau-Test keinerlei Lichtreaktion zeigen; dies läßt sich, sogar an den meist nur wenig beweglichen Tieren der Linie C_{15}, durch direkte Beobachtung eindeutig erkennen (Spalte 5) und führt natürlich zu einem Reaktionsquotienten im Bereich von Q = 0 (Spalte 6). Davon abgesehen, daß Mutanten ohne jede Phototaxis der Fragestellung der vorliegenden Arbeit nicht entsprechen, würde man sich im übrigen statt der hier gefundenen eher solche wünschen, denen zum visuellen Verhalten in Beziehung stehende äußere Abnormitäten - dazu gehören bekanntlich auch Flügelanomalien - fehlen.

3. Die beiden einander sehr ähnlichen Mutanten der Gruppe 3 sind nur wenig getestet worden, obgleich ihre Q-Werte deutlich und anscheinend reproduzierbar von der Norm des Wildtyps abweichen (Spalte 6 und 7). Die Fliegen der etwas schwierigen Stämme lassen sich aber, wegen ihrer sehr eingeschränkten Vitalität, im Verhaltensversuch nur schlecht

Anmerkungen zur Tabelle 9a und 9b

*Wenn nicht anders vermerkt sind stets die Eigenschaften der Männchen gemeint und die der Weibchen als normal vorausgesetzt (X-Chromosomaler Erbgang)

**Die Abkürzungen haben folgende Bedeutung

UVdom+ : stark ausgeprägte, eindeutig dominierende UV-Reaktion; nicht sichtbare oder nur geringfügige Blau-Reaktion

UVdom : mäßig ausgeprägte, aber eindeutig dominierende UV-Reaktion

(UVdom) : nur schwach erkennbare UV-Reaktion, keine Blau-Reaktion sichtbar

UVdom- : gut ausgeprägte, insgesamt deutlich dominierende UV-Reaktion bei eindeutig erkennbarer, untergeordneter Blau-Tendenz

(UVdom-) : dasselbe Verhältnis zwischen UV- und Blau-Tendenz, jedoch bei spärlich ausgeprägter Lichtreaktion überhaupt

UVdom-Bl: ähnlich wie UVdom-, doch ist die Blau-Reaktion stärker ausgeprägt und besitzt sogar streckenweise (meist nur im ersten Lauf jedes Versuchs) das Übergewicht

Bldom+; Bldom; (Bldom); Bldom- : entsprechend wie oben für Reaktionen mit dominierender Blau-Tendenz

UVdom / Bldom : UV- und Blau-Reaktion dominieren zu gleichen Teilen

Die genannten Kennzeichnungen sind durch direkte, vom Verteilungsergebnis unabhängige Beobachtung meist des gesamten Versuchsablaufs gewonnen

***statistischer Vergleich von $\bar{Q}$ zwischen den einzelnen Stämmen und dem Wildtyp (Berechnungen nach der in den Erläuterungen zur Tabelle 1 angegebenen Formel)

Tabelle 9a

	Stamm	allgemeine Eigenschaften* (unabhängig vom Test)	Eigenschaften im Phototaxistest (UV-Blau-Versuch)				Beurteilung des Stamms Bereiche, in denen ein genetisch stabiler Defekt festgestellt wurde
			Beweglichkeit	UV-Blau-Reaktion			
				direkt beobachtete Lichtreaktion** $F_2u.F_3$	mittlerer Reaktionsquotient $\bar{Q} \pm s$ $F_2u.F_3$ $D=2,46\cdot10^{-2}$	p(einseitig) im t-Test*** $F_2u.F_3$	
	O_{11}	normal	gut	UVdom+	0,729±0,086 N=39		
1	B_3	Augen rötlich-gelbbraun	gut	"	0,729 1		Augenmutanten
	C_7	Struktur der Augenoberfläche bei ♂♂ und ♀♀ vergröbert (rauh)	gut	UVdom-	0,545± 3	0,1	
	G_2	± große Bereiche am Augenrand, oft nur einzelne Facetten, schwarzpurpurn	mäßig	UVdom+	0,706 1		
	C_6	Augen rotbraun, häufig abnorme Flügelstellung	befriedigend - gering	UVdom	0,402±0,208 2	0,14	Augen-Flügel-Mutante
	E_6	Augen hell-rotbraun, geringe männliche Nachkommenschaft, z.T. Bewegungsstörungen	befriedigend -gering	UVdom	0,556 1	-	Augen-Vitalitäts-Mutante
	D_6	Flügel bei leichter Äthernarkose gespreizt	gut	UVdom+	0,675±0,106 2		Flügel(Muskulatur?)-Mutante
2	C_{15}	Augen häufig ± verkleinert und ± deformiert, z.T. normal; ♂♂ schlüpfen später als ♀♀ und in viel geringerer Anzahl	gering	keine	0,068±0,132 3	0,006	Augen-Phototaxis-Mutante
	D_7	männliche Nachkommenschaft gering, Flügel meist gespreizt	±befriedigend	keine	-0,160±0,002 2	<0,0005	Flügel-Phototaxis-Mutante
3	A_{29}	sehr ätherempfindlich, Bewegungen unkoordiniert	gering	UVdom	0,400±0,035 2	0,0008	?
	A_{34}	wie A_{29}, Merkmale noch stärker ausgeprägt	gering	(UVdom)	0,370 1	-	
4	L_3	spontane Beweglichkeit deutlich vermindert, sonst normal	langsam	UVdom	0,752±0,153 ?		Aktivitäts-Mutante
	C_{14}	normal	mäßig	UVdom	0,58 ±0,226 2	0,05	Reaktivitäts(?)-Mutante
	J_2	Flügel meist gespreizt	Lichtreaktion sehr langsam	UVdom	0,599±0,190 2	0,25	Flügel-Reaktivitäts(?)-Mutante
	B_7	normal		UVdom-	0,440±0,126 3	0,025	
	C_{11}	"		"	0,498±0,136 3	0,055	Reaktivitäts(?)-Mutanten
	A_{20}	"	meist sehr gering	"	0,449±0,033 3	<0,0005	UV-Blau-Mutanten ?
	A_{10}	"	gering	(UVdom-)	0,222±0,116 4	0,0015	

Tabelle 9b

Stamm	Allgemeine Eigenschaften	Eigenschaften im Phototaxistest (UV-Blau-Versuch)							Beurteilung des Stamms Bereiche genetisch stabiler Defekte: verminderte UV-Reaktion
		Beweglichkeit	UV-Blau-Reaktion						
			direkt beobachtete Lichtreaktion		mittlerer Reaktionsquotient $\bar{Q} \pm s$		p(einseitig) im t-Test		
			F_2 u. F_3	F_4 u. F_6	F_2 u. F_3 $D=2{,}46\cdot10^{-2}$	F_4 u. F_6 $D=1{,}0\cdot10^{-2}$	F_2 u. F_3	F_4 u. F_6	
O_{11}	normal	gut	UVdom+	UVdom+	0,729±0,086 N=39	0,652±0,061 N=23			
I_2	normal	gut	UVdom-	UVdom-Bl	0,63 ±0,241 5	0,320±0,110 2	0,21	0,075	fraglich•
K_2	"	gut	"	UVdom-	0,602±0,003 2	0,549±0,163 3	<0,0005	0,24	fraglich
C_{13}	"	± befriedigend	"	UVdom-(Bl)	0,596±0,217 5	0,497 1	0,125	-	fraglich
K_6	"	± befriedigend	"	"	0,574±0,079 3	0,322±0,176 5	0,03	0,007	+
H_{12}	"	gut	"	UVdom-	0,523±0,012 3	0,438±0,081 5	<<0,0005	0,0016	+
C_2	"	gut	"	"	0,532±0,211 6	0,336±0,125 2	0,037	0,09	vermutlich•
A_9	"	befriedigend	"	"	0,514±0,073 4	0,369±0,052 2	0,002	0,03	+
H_6	"	gut	"	UVdom-(Bl)	0,508±0,110 4	0,447±0,051 2	0,011	0,031	+
F_{10}	"	± gut	UVdom-(Bl)	UVdom-Bl	0,505±0,098 5	0,30 ±0,047 2	0,0023	0,005	+
5 U_4	"	gut	UVdom-	UVdom-	0,504±0,073 3	0,369±0,072 5	0,009	<0,0005	+
A_{17}	"	gut	"	"	0,490±0,269 6	0,538±0,149 2	0,04	0,24	vermutlich
A_{18}	"	gut	"	"	0,464±0,062 4	0,530±0,109 2	<0,0005	0,175	vermutlich
I_4	"	befriedigend	"	UVdom-(Bl)	0,454±0,058 2	0,333±0,084 6	0,03	<0,0005	+
L_1	"	befriedigend	UVdom-Bl	UVdom-Bl	0,428±0,054 5	0,298 1	<0,0005	-	+
H_8	"	gut	UVdom-	UVdom-	0,424±0,067 3	0,484±0,053 5	0,0023	<0,0005	+
F_5	"	ausreichend	"	"	0,424±0,115 3	0,60 1	0,02	-	fraglich
J_5	"	gut-befriedig.	UVdom-Bl	UVdom-(Bl)	0,40 ±0,091 3	0,331±0,109 4	0,009	0,004	+
B_4	"	befriedigend	UVdom-	UVdom-	0,375±0,095 3	0,365±0,128 3	<0,01	0,03	+
F_4	"	ausreich.-mäßig	UVdom-Bl	"	0,279±0,111 5	0,405±0,081 2	<0,0005	0,07	+
A_2	normal	meist vermind.	UVdom-(Bl)	Bldom-UV	0,415±0,117 7	-0,26 ±0,043 2	<0,0005	0,00^	+ bis ++
L_5	"	gut-mäßig	UVdomBldom	"	0,084±0,111 4	-0,51 ±0,098 2	<0,0005	0,02	++
6 M_2	"	meist erheblich vermindert	Bldom-	Bldom-	-0,220±0,237 5	-0,538±0,033 3	<0,0005	<0,0005	++
A_4	"	erhebl. vermind.	(Bldom)		-0,322±0,209 3		0,007		++
A_{32}	normal	gut	Bldom+		-0,810 1		-		+++
A_{31}	"	erhebl. vermind.	Bldom		-0,830±0,201 5		<0,0005		+++
A_{27}	"	± befriedigend	Bldom+		-0,850±0,030 N=6		<<0,0005		+++
A_1	"	befriedigend	"		-0,884±0,039 6		<<0,0005		+++
7 I_3	"	gut	"		-0,895±0,029 3		<<0,0005		+++
B_3	"	gut	Bldom+		-0,897±0,059 3		<<0,0005		+++
F_3	"	gut	"		-0,899 1		-		+++
D_2	"	befriedigend	"		-0,959±0,024 3		<<0,0005		+++
F_1	abnorme Reaktion auf Schütteln: fliegen nicht weg	wird ausreich.	Bldom+		-0,985±0,025 N=3		<<0,0005		+++
K_2	Nachkommenschaft zuerst gering, ♂♂ meist mit abnormer Flügelstellung; Fliegen später (F_4) bis auf geringe spontane Beweglichkeit normal; nach in Teil II beschriebenen Kreuzungen mit "rauhen"Augen	befriedigend-gering	(UVdom)	Bldom	0,333 1	-0,873 1			?
?									

• in späteren Versuchen als Mutante bestätigt

verwenden. Außerdem ist nicht ganz sicher, ob die Verminderung des Reaktionsquotienten tatsächlich auf einer Veränderung der relativen UV-Blau-Tendenz beruht oder lediglich durch die geringe Beweglichkeit der Versuchstiere (Spalte 4) zustande kommt.

4. Dies gilt auf ähnliche Weise auch für die Stamme der Gruppe 4. Deren Verhaltensanomalie besteht darin, daß ihre Fliegen im Phototaxisversuch deutlich weniger beweglich sind als die des Wildtyps, handele es sich dabei nun - was hier nicht eindeutig entschieden werden kann - um eine Verminderung der spontanen Aktivität oder der Reaktivität. Vier der Stämme besitzen darüber hinaus ein bei mäßig dominierender UV-Reaktion mehr oder weniger signifikant verkleinertes Q. Beruht das auf einer Verminderung der relativen UV-Tendenz? Möglicherweise; doch liegt eine andere Erklärung nicht weniger nahe: Aufgrund der zum Teil erheblich schwächeren Beweglichkeit der Versuchstiere könnte - trotz unveränderter Relation der UV-Blau-Tendenz - die Verfrachtung der Fliegen in die UV-Hälfte des Apparats so an Effektivität verlieren, daß schon allein dadurch verhältnismäßig niedrige Q-Werte zustande kommen; umso mehr, als ja Laufzeit und Versuchsdauer entschieden auf das Verhalten normaler Tiere zugeschnitten sind. Es könnten sogar bestimmte Formen verminderter Mobilität auf solche Weise zu kleineren Q-Werten führen, ohne daß es auch bei anderen der Fall sein müßte (diese zusätzliche Annahme wäre in der Tat notwendig, weil z.B. der Stamm L_3 durchaus normale Reaktionsquotienten aufweist). Vorsicht ist jedenfalls bei der Beurteilung von Verteilungsergebnissen geboten, wenn die Beweglichkeit der Fliegen im Versuch irgendwie vermindert ist.

5. Mit der Gruppe 5 (Tab. 9b) komme ich nun endlich zu Stammen, deren Fliegen in ihren äußeren Eigenschaften sowie im Verhalten allgemein normal erscheinen, jedoch speziell durch relativ niedrige Reaktionsquotienten auffallen. Deren Werte liegen allerdings - bei Gruppe 5 - noch deutlich im positiven Bereich, nicht selten sogar an der Grenze der Norm. Die Identifizierung genetisch stabiler Veränderungen

im UV-Blau-Test wird damit zu einem statistischen Manöver. Dabei müssen die Verteilungsergebnisse der zweiten und dritten Nachkommenschaft einerseits sowie der vierten und sechsten andererseits (in Spalte 7 bzw. 8 zusammengefaßt) getrennt geprüft werden (Spalte 9 bzw. 10), weil von der F_4 ab die Intensität des UV-Lichts um etwa die Hälfte vermindert wurde. Eine genauere Betrachtung der angeführten Zahlen zeigt, daß sich für fast $\frac{2}{3}$ der Fälle eine über mehrere Generationen anhaltende Verschiebung des Reaktionsquotienten, im Sinne einer abgeschwächten UV-Reaktion, wohl mit einigermaßen gutem Gewissen behaupten läßt (letzte Spalte). Bei einigen Stämmen dagegen bleibt eine solche Einschätzung statistisch unbegründet ("fraglich") oder noch zu unsicher (bei den Stämmen C_{13}, I_2, K_3, F_5 bzw. C_2, A_{17}, A_{18}), ein Umstand, der zumindest zum Teil hätte vermieden werden können, wenn die für den statistischen Test sehr ungünstige, zu kleine Versuchszahl von zwei (oder drei) regelmäßig überschritten worden wäre.

Die in der Tat etwas heikle Beurteilung der Stämme der Gruppe 5 kann sich allerdings, außer auf den genannten Zahlenvergleich, auch auf die direkte Beobachtung des Verteilungsverhaltens stützen. Das sollen die Angaben der Spalten 5 und 6 zum Ausdruck bringen; doch mag das auf vielleicht nicht sehr überzeugende Art geschehen. Deshalb möchte ich hier einige erklärende Worte hinzufügen. - Für einen ein wenig geübten Betrachter des Verteilungsgeschehens im UV-Blau-Versuch verhalten sich die Fliegen der 19 diskutierten Stämme auf durchaus charakteristische, vom Wildtyp teils sehr deutlich verschiedene, meist allerdings nur relativ geringfügig abweichende, doch jeweils stets gleichbleibende Weise. Zwei Beispiele sollen näher beschrieben werden. Die Tiere des Stamms H_{12} etwa zeigen während des gesamten Versuchsablaufs eine klar dominierende UV-Reaktion (deshalb sind die Q-Werte verhältnismäßig hoch). Jedoch sieht man gleichzeitig eine ebenso anhaltende, zwar untergeordnete, aber eindeutig unterscheidbare Blau-Reaktion - nämlich dort, wo das Blaulicht jeweils auf das Röhrensystem trifft -, die

in dieser ausgeprägten, immer wiederkehrenden Form dem Wildtyp unter den gewählten Versuchsbedingungen fehlt. Zwangsläufig liegen daher die Reaktionsquotienten in Versuchen mit H_{12}-Tieren regelmäßig etwas unterhalb der Norm. Zu einem nicht allzusehr verschiedenen Endergebnis kommen die Fliegen des Stamms L_1 auf gänzlich andere Weise. Im ersten Lauf jedes Versuchs herrscht bei ihnen nämlich die Blau-Tendenz vor; und auch in den folgenden zwei oder drei Läufen strömt die Mehrzahl der Tiere in die Blau-Hälfte des Apparats. Das ändert sich allerdings mit erstaunlicher Gleichförmigkeit im weiteren Fortgang des Versuchsgeschehens, indem nun die UV-Reaktion die Oberhand gewinnt und, während das Blaulicht zunehmend weniger beachtet wird, die Mehrzahl der Fliegen bis zum Versuchsende in die UV-Hälfte hinüberzieht. Dieses Beispiel läßt erkennen, wie groß der Einfluß der Versuchsdauer, d.h. der Anzahl der Läufe, auf das Endergebnis sein kann (kürzere Versuche mit dem Stamm L_1 würden zu wesentlich niedrigeren, ganz kurze sogar zu negativen Q-Werten führen), die automatische Zusammenfassung mehrerer Läufe also unter Umständen die Besonderheiten des Verteilungsgeschehens eher verschleiert als verschärft; es zeigt sich, daß der Quotient Q, weil Maßzahl einer durchschnittlichen Reaktionstendenz, für die Erfassung mancher phototaktischer Anomalien von begrenztem Wert ist. Allerdings stellt der Stamm L_1 ein extremes Beispiel einer Verhaltensänderung während des Versuchsablaufs dar: die übrigen Stämme der Gruppe 5 liegen in ihrer Reaktionsweise zwischen derjenigen von L_1 und - dessen Gegenteil - H_{12}, letzterem Stamm meist sogar ähnlicher als ersterem. In jedem Fall aber lassen sich gewisse Abweichungen vom Normalverhalten auch dort beobachten, wo eine Verminderung von Q statistisch nicht gesichert werden kann.

Die relativ geringen Veränderungen der Stämme der Gruppe 5 stellen eine nach den Ursachen fragende Interpretation vor zwei Probleme. Hat man es - erstens - tatsächlich mit Mutanten zu tun oder verdanken die beobachteten Besonderheiten des Verhaltens ihre Entstehung einem Selektionsprozess, d.h. der durch die Weiterzucht ausgewählter F_1-Männchen bedingten Verschiebung eines dem Wildtyp eigenen polygenen Systems?

Und - zweitens - gibt es gute Gründe anzunehmen, daß die gefundenen Anomalien wirklich auf einer veränderten Attraktivität der Testreize beruhen und nicht auf sich der Beobachtung entziehenden lichtunspezifischen Eigenschaften der Fliegen? Die Versuche im Phototaxisapparat lassen eine positive Beantwortung der letzteren Frage wohl erst dann mit Sicherheit zu, wenn Verteilungsergebnisse mit negativen Q-Werten vorliegen oder wenigstens eine eindeutige Umkehr der Reaktionstendenz direkt zu beobachten ist - für die Mehrzahl der diskutierten Stämme also eigentlich nur mit größtem Vorbehalt.

6. Einer so umständlichen Erörterung wie die bisher vorgestellten Stämme bedürfen diejenigen der Gruppe 6 nicht. Bei ihnen steht die Verminderung des Reaktionsquotienten Q, der zum Teil entschieden negative Werte annimmt, außer Zweifel. Auch gibt die eingeschränkte Beweglichkeit aller vier Stämme keinen Anlaß, die Abweichungen der Q-Werte - als Anzeichen veränderter spektraler Empfindlichkeit - qualitativ in Frage zu stellen, weil dominierende Reaktionen zum Blaulicht sicher zu erkennen sind. Und schließlich erscheint es unbegründet anzunehmen, daß derart weitreichende Änderungen des phototaktischen Verhaltens durch einen einzigen Selektionsschritt bewirkt werden könnten. Man hat es also bei der Stämmen der Gruppe 6 mit Mutanten der in dieser Arbeit _ achten Art zu tun, und zwar offensichtlich solchen, bei denen unter den angewendeten Versuchsbedingungen, insbesondere den Intensitätsverhältnissen in der F_4 und F_6, die Blau-Tendenz, ohne absolut zu dominieren, die UV-Reaktion bereits erheblich übertrifft.

7. Ebenfalls Mutanten sind sicherlich auch die Stämme der letzten Gruppe, von denen die meisten alle an sie gestellten Ansprüche zu erfüllen scheinen: normale allgemeine Eigenschaften einschließlich befriedigender Beweglichkeit und nahezu vollständig fehlende UV-Tendenz bei guter Reaktion auf Blaulicht. Mit diesen Mutanten ist das Ziel des ersten Teils meiner Arbeit gewiß erreicht. Es stellt sich allerdings sofort eine ganze Reihe von Fragen, die darüber hinausgehen, aber erst im zweiten Teil behandelt werden sollen,

zum Beispiel: gibt es äußerlich nicht so ohne weiteres feststellbare anatomische Defekte, die zu der entdeckten Anomalie des phototaktischen Verhaltens in Beziehung stehen; welches ist die genetische Natur der zugrunde liegenden Mutationen; sind - vorausgesetzt es handelt sich um Genmutationen - gleiche oder verschiedene Gene betroffen?
An dieser Stelle möchte ich lediglich noch eine kurze Bemerkung anfügen, welche die zuletzt genannte Frage berührt: Es fällt auf, daß die Fliegen der Gruppe 7 - bis auf zwei - einander in jeder Hinsicht sehr ähnlich sind, was die Vermutung geradezu provoziert, es wären in allen Fällen gleiche genetische Defekte beteiligt. Ausnahmen bilden nur die Stämme A_{31} (mit sehr schlechter Beweglichkeit) und F_1.
Wie bei den Fliegen des letzteren Stamms das Fehlen praktisch jeder UV-Tendenz mit der kuriosen Eigenart zusammenhängt, auf noch so penetrante Störungen nicht mit Flucht zu reagieren, sondern stocksteif sitzen zu bleiben, kann ebenfalls erst aufgrund später genannter Befunde beurteilt werden.
Die Tabelle 9b schließt mit dem Stamm K_2, der im Lauf der Generationen mehrmals seine Eigenschaften, sowohl die äußeren als auch die des Verteilungsverhaltens, geändert hat. Eine Beurteilung erscheint auf der Grundlage der vorliegenden Daten nicht sinnvoll.

γ) Kreuzungen mit dem Kontrollstamm O_{11}

Bei den Versuchen zur Identifizierung von Mutanten trat schon früh ein bisher übergangenes Phänomen auf, das es notwendig machte, die bisher beschriebene Verfahrensweise gelegentlich etwas zu erweitern. Es gab nämlich Stämme, deren zweite Nachkommenschaft offensichtlich aus Fliegen unterschiedlicher Reaktionstendenz bestand. Dies zeigt die Tabelle 10. Hier sind die Ergebnisse von UV-Blau-Tests mit Stämmen der Gruppe 7 wiedergegeben, und zwar einerseits für Versuchsgruppen der zweiten Nachkommenschaft und solchen, deren genetische Zusammensetzung derjenigen der F_2 - infolge Stamminzucht - entspricht (Spalte 2), andererseits aber

Tabelle 10

UV-Blau-Reaktion bei den Mutanten der Gruppe 7 (s. Tab. 9b) ohne und nach Rückkreuzung der Männchen mit Weibchen des Kontrollstamms O_{11}

Stamm	UV-Blau-Reaktion (♂♂): Reaktionsquotient Q und direkt beobachtetes Verhalten			
	Versuchsgruppen mit der ursprünglichen genetischen Zusammensetzung der F_2	Gruppen nach Rückkreuzung unselektionierter ♂♂ mit O_{11}-♀♀	Gruppen nach Kreuzung Blau-Licht bevorzugender ♂♂ mit O_{11}-♀♀ ★★	Gruppen nach Kreuzung UV-Licht bevorzugender ♂♂ mit O_{11}-♀♀
A_{32}	$\bar{Q}$=-0,363 N=2 ★	Q=-0,476 N=1 Bldom+/UVdom+	Q=-0,81 N=1	$\bar{Q}$=+0,656 N=2 UVdom+
F_3	-0,307 N=2 } Bldom+/UVdom+		-0,899 N=1 } Bldom+	
A_1	$\bar{Q}$=-0,906 N=4 Bldom+	$\bar{Q}$=-0,841 N=2 Bldom+		Q=-0,89 N=1 Bldom+
A_{31}	-0,737 3 "	-0,971 2 "		
B_8	-0,941 1 "	-0,921 1 "		
D_2	-0,981 1 "	-0,963 1 "		
F_1	-1 1 "	-1 1 "		
I_3	-0,92 1 "	-0,901 1 "		
A_{27}	-0,85 6 "			

★vollständig dominierende Blau-Reaktion bzw. ebensolche UV-Reaktion bei verschiedenen Fliegen derselben Versuchsgruppe; die übrigen Bezeichnungen des direkt beobachteten phototaktischen Verhaltens wie in der Tabelle 9

★★aus den Röhren IIIb und 4b

für genetisch veränderte Versuchsgruppen, deren Fliegen aus Rückkreuzungen ausgewählter oder unausgewählter Männchen der betreffenden Stämme mit Weibchen des Kontrollstamms gewonnen wurden (Spalte 3-5). In der Spalte 2 der Tabelle wird zunächst das genannte Phänomen selbst vorgestellt: die Fliegen der Stämme A_{32} und F_3 zeigen - im Gegensatz zu denen der übrigen Linien - die in der Tabelle 9b angegebene vollständig dominierende Blau-Reaktion nicht schon in der F_2, sondern bilden hier, wie die direkte Beobachtung des Verteilungsablaufs nahelegt, anscheinend ein Gemisch aus Tieren mit entweder den Eigenschaften der extrem UV-unempfindlichen Mutanten oder - etwas geringer in der Zahl - des Wildtyps; infolgedessen haben die Reaktionsquotienten Q negative Werte nur mäßiger Größe. Diese zunächst bloß phänotypische Heterogenität von A_{32} und F_3 erwies sich dann in Rückkreuzungen mit Weibchen des Kontrollstamms tatsächlich als genetisch, und zwar sicherlich monofaktoriell bedingt; denn aus selektiven Kreuzungen mit phototaktisch abnormen bzw. normalen Individuen des Gemischs gingen bereits in der nächsten Generation "reine", d.h. zumindest dem Verhalten nach einh itlich zusammengesetzte Linien hervor, nämlich zum einen je eine, seitdem als Stamm unverändert gebliebene Mutantenlinie (Spalte 4), zum anderen - nur bei A_{32} durchgeführt - eine Wildtyplinie (Spalte 5). Es war also zur Gewinnung der Mutanten A_{32} und F_3 eine zusätzliche Rückkreuzung der zweiten Nachkommenschaft notwendig. Natürlich beziehen sich die Angaben der Tabelle 9b auf Versuche mit den so vom Wildtyp gesäuberten Stämmen; diese sind dann später zur Vorsicht noch einmal auf die gleiche selektive Weise rückgekreuzt worden.

Wie aber ist die beschriebene Heterogenität zu erklären? Zunächst scheint es naheliegend anzunehmen, es sei bei den beiden aus der Reihe fallenden Mutanten ein dominant autosomales Allel im Spiel; die Hälfte der zweiten Nachkommenschaft wäre dann für diesen Faktor heterozygot, die andere Hälfte homozygot normal gewesen. Doch stimmen die Ergebnisse der Spalten 2 und 3 mit einer solchen Erklärung nicht

überein. Die Rückkreuzung mit dem Wildtyp hätte nämlich im ersten Falle (Spalte 3) eine Zunahme der Normaltiere und folglich einen Anstieg von Q hervorrufen müssen, was nicht zutrifft, im zweiten Fall, da ja stets ein zumindest großer Teil der selektionierten Mutanten heterozygot wäre, nicht zu einer Etablierung wenigstens annähernd reiner Stämme führen dürfen. Man hat also davon auszugehen, daß alle Mutanten der Gruppe 7 auf einer X-chromosomalen Mutation beruhen, eine Annahme, die durch später genannte Versuche noch besser belegt werden wird. Ich weiß auf dieser Grundlage für die anfängliche Heterogenität der Stämme A_{32} und F_3 - falls man Verunreinigung ausschließt - keine andere Erklärung als die eines mosaikartig zusammengesetzten Keimgewebes der betreffenden F_1-Männchen aus Zellen mit und ohne mutiertem X-Chromosom. Derartige Mosaike treten bei chemisch induzierter Mutagenese durch EMS und viele andere Agentien, sowohl in der Keimbahn als auch im Soma, aus prinzipiell verständlichen, im einzelnen noch nicht ganz geklärten Gründen (infolge eines verzögerten, erst im Verlauf der frühen embryonalen Teilungen bei einem Teil der Zellen festgelegten Übergangs von einer "Prämutation" zur endgültig fixierten genetischen Veränderung) immer und in relativ großer Häufigkeit auf (Lee, 1976). So fanden Lee, Sega und Bishop (1970) nach EMS-Behandlung von Drosophila-Männchen unter den von ihnen gefundenen yellow-Mutanten 86% Mosaike, also Tiere mit gleichzeitig gelber und normal pigmentierter Körperoberfläche, ein sehr hoher Anteil, der allerdings wesentlich kleiner sein muß, wenn man nicht somatische Gewebe, sondern die Abkömmlinge der zahlenmäßig nur geringen Urkeimbahnzellen (Polzellen) betrachtet. Jedenfalls ist es an sich völlig normal, daß auch in dieser Arbeit Mosaiktiere in der F_1 (siehe Fußnote) und, in geringerer Zahl, genetisch gemischte Nachkommenschaften, gewissermaßen "Mosaike von Individuen", in der F_2 anzutref-

Fußnote: Mosaiktiere sind vermutlich z.B. die phänotypisch normalen F_1-Männchen gewesen, von denen die Mutanten der Gruppe 1 abstammen.

fen sind; ich hätte das gar nicht zu erwähnen brauchen. Doch führen Mosaike bei Verhaltensmerkmalen natürlich eher zu Schwierigkeiten und Verwechslungen als bei den meisten gängigen morphologischen oder anatomischen Eigenschaften von Mutanten: nicht nur ist es naturgemäß umständlich oder gar unmöglich, die Mosaiktiere selbst zu erkennen, sondern auch die Diagnose von Mosaikpopulationen hat ihre Probleme, und zwar besonders dann, wenn die betrachtete Verhaltenseigenschaft statt am einzelnen Individuum an Gruppen von Tieren untersucht werden muß. Das ist in dieser Arbeit der Fall. Zwar hat sich bei den Mutanten der Gruppe 7 eine Heterogenität leicht feststellen lassen, weil hier die phototaktische Reaktion von derjenigen des Wildtyps sehr stark abweicht und dieser Unterschied, was einer individuellen Auswertung näher kommt als die zusammenfassende Berechnung von Q, im Verteilungsablauf direkt beobachtet werden konnte. Mutanten mit geringeren und deshalb nur kollektiv erfaßbaren Abweichungen, z.B. diejenigen der Gruppe 5 (falls es sich hier tatsächlich um Mutanten handelt), machen dagegen in der erörterten Hinsicht notwendigerweise mehr Schwierigkeiten. In der Tabelle 11 sind wieder, wie in Tabelle 10, die Ergebnisse von UV-Blau-Versuchen mit Fliegen, die den Stämmen selbst entnommen wurden einerseits, und solchen, die aus Rückkreuzungen mit dem Kontrollstamm hervorgingen andererseits, gegenübergestellt - diesmal für die Stämme der Gruppen 5 und 6; fast stets wurde mit Männchen gekreuzt, welche dem Blaulicht den Vorzug gaben, also ein mehr oder weniger gereinigtes Kollektiv von Mutanten hätten bilden können. Wie die Durchsicht der Zahlenangaben aber erkennen läßt, hat die selektive Rückkreuzung in keinem einzigen Fall zu einer mehr als nur unbedeutenden Abnahme des Q-Wertes geführt.[1] Keiner zumindest der untersuchten Stämme - es fehlen ja einige - scheint also heterogen im oben darge-

[1] Auch eine signifikante Zunahme von Q ist im Durchschnitt nicht festzustellen, eine gewisse Erhöhung höchstens bei den Stämmen C_2, C_{13} und K_3; diese haben nicht zuletzt deshalb bei den statistischen Berechnungen der Tabelle 9b, wo alle Werte zusammengefaßt sind, schlecht abgeschnitten.

Tabelle 11

UV-Blau-Reaktion bei Stämmen der Gruppen 5 und 6 der Tabelle 9 - ohne und nach Rückkreuzung der Männchen mit Weibchen des Kontrollstamms

	Stamm	UV-Blau-Reaktion (♂♂): Reaktionsquotient Q und direkt beobachtetes Verhalten						geprüfte Generati
		Versuchsgruppen des nicht rückgekreuzten Stamms			Gruppen nach Kreuzung Blau-Licht bevorzugender ♂♂ mit O_{11}-♀♀			
Gruppe 6	A_2	$\bar{Q}$= 0,359	N=2	UVdom-Bl	$\bar{Q}$= 0,457	N=2	UVdom-Bl	F_3
	L_5	0,07	1	UVdom/Bldom	0,144	2	UVdom/Bldom	F_3
	M_2	-0,122	3	Bldom-	-0,368	2	Bldom-	F_3
		-0,576	1	Bldom-	-0,521	1	Bldom- ①	F_4
Gruppe 5	A_{17}	0,688	1	UVdom-	0,708	2	UVdom-	F_3
	A_{18}	0,438	2	UVdom- ②	0,568	1	UVdom-	F_3
					0,28	1	UVdom-Bl ③	F_3
	B_4	0,261	1	UVdom-	0,329	2	UVdom-	F_4
	C_2	0,596	1	UVdom-	0,758	2	UVdom+	F_3
	C_{13}	0,682	1	UVdom-	0,771	2	UVdom+	F_3
	F_4	0,282	2	UVdom-Bl	0,345	1	UVdom-Bl	F_3
	F_{10}	0,551	1	UVdom-Bl	0,525	2	UVdom-Bl	F_3
	H_4	0,367	3	UVdom-	0,372	2	UVdom-	F_4
	H_8	0,505	1	UVdom-	0,513	2	UVdom-	F_4
	H_{12}	0,461	1	UVdom-Bl	0,454	2	UVdom-	F_4
	I_2	0,806	1	UVdom-Bl	0,782	2	UVdom-	F_3
	I_4	0,289	1	UVdom-(Bl)	0,335	1	UVdom-Bl	F_4
	J_5	④ 0,478	1	UVdom-	0,315	1	UVdom-(Bl)	F_4
	K_3	0,471	1	UVdom-Bl	0,589	1	UVdom-	F_4
	L_1	0,415	2	UVdom-Bl	0,438	2	UVdom-Bl	F_3

① zweimalige selektive Rückkreuzung in aufeinanderfolgenden Generationen zugunsten von Blau-Licht

② ein fast gleiches Ergebnis ($\bar{Q}$=0,423) in einem Versuch nach Rückkreuzung unselektionierter Männchen mit O_{11}-♀♀

③ zweimalige Selektion zugunsten von Blau-Licht in derselben Versuchsgruppe, dann Rückkreuzung mit O_{11}-♀♀

④ überdurchschnittlich hoher $\bar{Q}$-Wert (s. Tabelle 9)

legten Sinn zu sein; oder das betreffende "Individuenmosaik", wo es eines gäbe, bestände aus zu wenigen Normaltieren, als daß ein einziger Selektionsschritt zu einer auffallenden Verschiebung der Gruppenreaktion führen würde; oder ein möglicher positiver Befund könnte von der Streuung der Versuchsergebnisse zugedeckt worden sein. Hier setzt eben - ausgenommen bei den Stämmen L_5 und M_2 - der relativ geringe Unterschied zwischen abnormem und normalem Verhalten sowie das Fehlen einer individuellen Unterscheidung der Möglichkeit, Sicheres auszusagen, enge Grenzen. Immerhin läßt sich folgendes feststellen: daß die Anomalie im Verteilungsverhalten bei den Stämmen der Gruppen 5 und 6 nur verhältnismäßig schwach ist, kann wahrscheinlich nicht - oder höchstens teilweise - auf eine durch Abstammung von einem Mosaikindividuum bedingte genetische Heterogenität der Versuchsgruppen zurückgeführt werden. Ob statt dessen in manchen Fällen eine gemischte Zusammensetzung der Stämme vorliegt, die auf einem dominant autosomalen Faktor beruht, ist leider mit Hilfe der Ergebnisse der Tabelle 11 nicht zu entscheiden, weil Kreuzungen mit unselektionierten Männchen nur vereinzelt durchgeführt und solche mit selektionierten Weibchen ganz unterlassen worden sind.

4. Diskussion

Ich möchte mich nun noch mit einigen Fragen beschäftigen, die zu erörtern mir erst im Zusammenhang sämtlicher Ergebnisse sinnvoll erschien. Dabei werden zum Teil bereits erwähnte Unklarheiten wieder aufgegriffen, teils neue Diskussionspunkte hinzugefügt.

a) Zunächst will ich an das zu den Versuchen mit der ersten Nachkommenschaft Gesagte anknüpfen. Hier hatte sich das Verteilungsverhalten der Fliegen als in erstaunlichem Umfang nicht normal erwiesen; viele Tiere waren auffallend träge, der Reaktionsquotient im Durchschnitt unerwartet niedrig gewesen (Tabelle 4, Zeile 1). Diese Veränderungen in der un-

selektionierten F_1 scheinen nun in den Ergebnissen der Identifizierungsversuche keineswegs ihre naheliegende Erklärung zu finden. Im Gegenteil drängt sich die Frage auf: warum zeigen die Fliegen der ersten Nachkommenschaft eine - gemessen am Wildtyp - so verhältnismäßig hohe Blau-Tendenz, wo doch die Ausbeute an Mutanten mit überwiegender Blaureaktion (das sind 12-13 unter 114 untersuchten Stämmen = 11%) sich vergleichsweise eher mager ausnimmt? Wie sind überhaupt die Ergebnisse der Isolierungs- und Identifizierungsversuche miteinander in Einklang zu bringen?
Die Lösung dieses Problems ist deshalb schwierig, weil es keine ausreichend genaue, direkte Auskunft über die Zusammensetzung der unselektionierten ersten Nachkommenschaft gibt, d.h. darüber, Fliegen welcher UV-Blau-Tendenz in welcher Häufigkeit in der F_1 insgesamt getestet wurden. Folglich bleiben Art und Anzahl der in der zweiten Nachkommenschaft zu erwartenden Mutanten im Grunde ungewiß. Man kann jedoch umgekehrt versuchen, die Häufigkeitsverteilung von Reaktionstypen in der ersten Nachkommenschaft aus der entsprechenden Verteilung sämtlicher von der F_1 abgeleiteten Stämme zu erschließen und die so (für die F_1) gewonnene Erwartung mit den tatsächlichen Ergebnissen der Phototaxistests zu vergleichen. Freilich muß ein solches Vorgehen notwendigerweise spekulativ bleiben und wird, schon wegen der rechnerischen Komplikationen, die sich aus den drei Anreicherungsschritten ergeben, ohne starke modellhafte Vereinfachung nicht auskommen. Ich hoffe, die angewendete Methode im folgenden verständlich dargestellt zu haben.

Eine für die quantitative Erschließung des genannten Problems wichtige vereinfachende Annahme betrifft das Spektrum der verschiedenen möglichen Reaktionstypen: es sollen nur wenige, distinkte, durch ihre Verteilung im Phototaxisapparat genau definierte Verhaltensformen zugelassen sein, so daß jedes Individuum der F_1 einer davon unzweideutig angehört. Die Auswahl dieser Typen erfolgt naturgemäß aufgrund der Ergebnisse der Identifizierungsversuche, wobei eine gewisse Willkür unvermeidlich ist. Zunächst habe ich

die in den Versuchen mit der zweiten Nachkommenschaft gefundenen (zum Teil durchschnittlichen) Reaktionsquotienten Q aller von der F_1 abgeleiteten 115 Linien[1] in sechs Klassen geordnet, deren Grenzen in der Spalte 2 der Tabelle 12a angegeben sind. Da eine Einteilung allein nach der Größe Q mir aber unzureichend erschien, wurde zusätzlich zwischen Stämmen mit normal und vermindert beweglichen Fliegen unterschieden. So haben sich 12 Verhaltenstypen ergeben (Spalte 1), die durch den mittleren Reaktionsquotienten $\hat{Q}$ (Spalte 3) und die Durchschnittsverteilung (Spalte 4) der jeweils zugehörigen Stämme definiert sein sollen. Die Reaktionstendenz jeder F_1-Fliege also, das wird festgelegt, entspricht genau einer der angegebenen Verhaltenscharakteristiken. Zur weiteren Vereinfachung muß ich fürs erste[2] außerdem noch von der Annahme Gebrauch machen, daß jeder Stamm sich von einem F_1-Individuum herleitet, das demselben Reaktionstyp angehört wie er selbst. Es bestehen dann zwischen der ersten und der zweiten Nachkommenschaft relativ übersichtliche und eindeutige Beziehungen sowohl was die Beschaffenheit und den "Erbgang" der betrachteten Eigenschaften betrifft als auch hinsichtlich der "Fortpflanzungswahrscheinlichkeit" der verschiedenen Merkmalsträger, welche ja durch die früher beschriebene Anreicherungs- und Isolierungspraxis vorgegeben ist; der Rückschluß von der Merkmalsstruktur der einen Generation auf die der anderen sollte - zumindest probeweise - möglich sein.
Konkret geht es um die rein rechnerische Lösung der Frage, wieviele Fliegen der einzelnen Reaktionstypen in der F_1 insgesamt vorhanden gewesen sein müssen, damit, berücksichtigt man alle Arten experimentell gewollter und unbeabsichtigter Dezimierung - durch die Anreicherungsschritte, durch Unfruchtbarkeit und sonstige Verluste -, eine F_2 zustande

[1] Eine Beschränkung auf die Ergebnisse der F_2 ist hier sowohl aus statistischen wie genetischen Gründen leider notwendig; denn zum einen sind nur in dieser Generation alle Stämme getestet worden, zum anderen ist eine genetische Veränderung der dritten gegenüber der zweiten Nachkommenschaft nicht auszuschließen (vergl. Tab. 7).

[2] nämlich für Modell A der Tabelle 13 (S.66a).

Tabelle 12a

Festlegung und Charakterisierung von Reaktionstypen in der F_1 und F_2

a) selektionsneutrale Typen

Reaktionstyp *	Klassengrenzen von Q bzw. $\bar{Q}$	$\hat{Q}$ ** Klassenmittel von Q bzw. $\bar{Q}$	(Standardverteilung) ** mittleres Verteilungsergebnis in % 4a+IIIa	IIa	I	IIb	IIIb+4b	Häufigkeit der betreffenden Stämme in der F_2
Wildtyp +	0,6 - 0,9	0,735	56,9	23,2	7,61	6,71	5,55	42
Typ +'		0,649	41,0	23,6	21,7	7,86	5,87	4
Typ I	0,4 - 0,599	0,520	48,7	20,4	9,15	11,5	10,3	31
I'		0,475	35,2	19,6	25,7	12,4	7,11	5
Typ II	0,2 - 0,399	0,318	41,4	17,7	10,4	16,3	14,3	13
II'		0,331	25,3	16,1	37,4	13,5	7,47	4
$IIIa_1$		0,081	29,5	18,1	12,0	17,0	23,5	2
Typ $IIIa_1$'	-0,15 bis +0,15	-0,083	22,3	12,8	23,4	23,4	18,1	1
$IIIa_2$'		-0,035	5,24	19,8	48,1	16,8	10,0	2
Typ IIIb	um -0,4	-0,4275	8,74	14,8	17,7	23,3	35,4	2
Typ IV	-1 bis -0,75	-0,898	0,72	4,10	5,14	15,5	74,6	8
IV'		-0,917	1,25	1,75	19,5	23,2	54,4	1
								115

* Durch den hochgestellten Strich ' werden Typen mit verminderter Beweglichkeit gekennzeichnet; diese macht sich vor allem durch eine erhöhte Individuenzahl in der Rohre I bemerkbar (Spalte 4).

** Durchschnittswerte sämtlicher in der F_2 ausgeführten Verteilungsversuche mit Stämmen des betreffenden Typs. Bei einigen Stämmen mit ausgeprägten, gleichbleibend abnormen Eigenschaften (Typen $IIIa_2$', IV', IV') sind ausnahmsweise auch die Ergebnisse der F_3 sowie der F_4 und F_6 mitverwendet worden. - Es wird der Einfachheit halber davon ausgegangen, daß die angegebenen Verteilungswerte die Reaktionstendenz der F_1-Fliegen "exakt" charakterisieren, d.h. die Fliegen eines Typs sollen nur eine einzige, individuell nicht variierende Tendenz aufweisen. Eine Veränderung des Gruppenverhaltens durch Selektion ist also ausgeschlossen.

kommt, welche die tatsächlich gefundene, in der Spalte 5 der Tabelle 12a angegebene Zusammensetzung aufweist. Sechs Möglichkeiten - ich will sie "Modelle" nennen - werden in der Tabelle 13 vorgestellt. Man findet dort die Modelle selbst - also die Hypothesen über die zahlenmäßige Zusammensetzung der unselektionierten ersten Nachkommenschaft aus Fliegen verschiedener, definierter Reaktionstypen - in der 2. und 3. Spalte, die korrespondierende Merkmalsstruktur der F_2 in Spalte 5 (über die rechnerische Beziehung zwischen den Werten von F_1 und F_2 gibt die Erläuterung 2 genauere Auskunft). Die Zahlenangaben der Spalten 4 und 6 schließlich dienen der Nachprüfung der vorgeschlagenen Hypothesen. Erstere enthält die Verteilungsergebnisse, welche man im ersten Anreicherungsschritt für die Gesamtpopulation jedes Reaktionstyps - gemäß dem in der Tabelle 12a, Spalte 4 festgelegten Verhalten - erwarten würde. Deren Summe, also das erwartete Ergebnis eines Verteilungsversuchs mit allen Reaktionstypen gemeinsam, d.h. mit der gesamten F_1 (jeweils in der letzten Reihe jedes Modells aufgeführt), sollte mit den empirisch festgestellten Werten, gewonnen aus der Zusammenfassung aller Isolierungsversuche des ersten Anreicherungsschritts, übereinstimmen. Man findet diese Ergebnisse in der ersten Zeile der Tabelle. Zum Vergleich zwischen Befund und Erwartung kann außerdem noch der Reaktionsquotient Q(F_1gesamt) (Spalte 6) herangezogen werden.

Welche Eigenschaften haben aber nun die einzelnen Modelle; was kann man aus ihnen lernen? Modell A zunächst läßt erkennen, daß auf der Grundlage der oben (S. 63ff) genannten Annahmen und Rechenvorschriften ein Rückschluß von der F_2 auf die F_1 zu keiner akzeptablen Lösung führt. Denn offensichtlich ergeben sich dabei, vor allem für die Wildtypfliegen, Individuenhäufigkeiten enormer, ganz indiskutabler Höhe (Spalte 3). Man muß daher nach einem Weg suchen, das Modell den Realitäten anzupassen, d.h. seine Voraussetzungen in einer Weise zu ändern, welche die Kalkulation von weniger, insbesondere weniger normalen F_1-Fliegen bewirkt und den Quo-

Tabelle 13

Modelle für die zahlenmäßige Zusammensetzung der unselektionierten ersten Nachkommenschaft aus Fliegen 13 verschiedener Reaktionstypen

alle Zahlenangaben sind als absolute Häufigkeiten zu verstehen

	Zusammensetzung der F_1		Verteilung der F_1 im ersten Anreicherungsschritt				Anzahl der in F_2 erwarteten Stamme	$Q(F_1$gesamt) im 1. Anreicherungsschritt
	Reaktionstyp ★	Gesamthäufigkeit	4a/IIIa/IIa*	I	IIb	IIIb/4b		
tatsächliches Gesamtergebnis der F_1 im ersten Anreicherungsschritt ★★	Zusammensetzung unbekannt	17353	11313	2516	1909	1615	Befund, siehe Tabelle 12a letzte Spalte	0,525
Modell A Berechnung nach Tabelle 12a	+	54307	43516	4133	3644	3014	42	
	+'	4254	2747	933	334	250	4	
	I	10022	6917	917	1156	1032	31	
	I'	3300	1808	848	409	235	5	
	II	1940	1146	202	315	277	13	
	II'	2249	937	841	303	168	4	
	$IIIa_1$	97,4	46,3	11,7	16,5	22,9	2	
	$IIIa_1$'	79,1	27,8	18,5	18,5	14,3	1	
	$IIIa_2$'	560,5	140,4	269,6	94,3	56,2	2	
	IIIb	35	8,2	6,2	8,2	12,4	2	
	IV	24,6	1,2	1,3	3,8	18,3	8	
	IV'	6,3	0,2	1,2	1,5	3,4	1	
	alle Typen	76875	57295	8172,5	6304	5103,5	115	0,668
Modell B Berechnung nach Tabelle 12b	+	35289	28277	2685	2368	1959	42	
	+'	3530	2280	766	277	207	4	
	I	7692	5309	704	887	792	31	
	I'	3053	1673	785	378	217	5	
	II	1613	952	168	262	231	13	
	II'	1915	1750	716	258	143	4	
	III - IV'	s.o.	wie in Modell A				26	
	alle Typen	53895	39513	6132,5	4573	3676,5	115	0,655
Modell C_1 + und +' ersetzt durch II	II } + oder +'	5708	12326	3275,5	2855,8	2326,5	46	
	I - IV'	s.o.	wie in Modell B				69	
	alle Typen	20784	12326	3275,5	2856	2326,5	115	0,408
Modell C_2 + und +' fast ganz durch $IIIa_1$ ersetzt	+	38,1	30,5	2,9	2,6	2,1	0	
	$IIIa_1$ } + oder +'	2239	1065	269	380	525	46	
	I - IV'	s.o.	wie in Modell B				69	
	alle Typen	17353	10051,6	2953,4	2310,4	2037,6	115	0,396
Modell C_3 + und +' meist durch IV ersetzt	+	2144,8	1718,7	163,2	143,9	119,0	3	
	IV } + oder +'	132,3	6,4	6,8	20,5	98,6	43	
	I - IV'	s.o.	wie in Modell B				69	
	alle Typen	17353	10681,2	2851,5	2092,2	1728,1	115	0,485
Modell D	+	5987	4797	456	402	332	7	
	I } $IIIa_1$ IIIb IV IV' } + oder +'	762	526	70	88	78	3	
	I'	611	335	157	76	43	1	
	II	248,1	146,5	25,8	40,3	35,5	2	
	$IIIa_1$	194,7	92,6	23,4	33,0	45,7	4	
	IIIb	70	16,5	12,4	16,3	24,8	4	
	IV	70,7	3,4	3,6	11,0	52,7	23	
	IV'	12,5	0,4	2,4	2,9	6,8	2	
	I	3225	2226	295	372	332	13	
	I'	1221	669	314	151	87	2	
	+ } II II' $IIIa_1$ IIIb IV IV' } I oder I'	840	673	64	56	47	1	
	II	248	146,4	25,8	40,3	35,5	2	
	II'	479	199,5	179,1	64,6	35,8	1	
	$IIIa_1$	97,4	46,3	11,7	16,5	22,9	2	
	IIIb	35	8,2	6,2	8,2	12,4	2	
	IV	36,9	1,8	1,9	5,7	27,5	12	
	IV'	6,3	0,2	1,2	1,5	3,4	1	
	II	869	514	90	141	124	7	
	II'	957	399	358	129	71	2	
	I } II IV } II' oder	496	342,3	45,4	57,2	51,1	2	
		18,5	0,9	0,9	2,9	13,8	6	
	$IIIa_1$	97,4	46,3	11,7	16,5	22,9	2	
	$IIIa_1$'	79,1	27,8	18,5	18,5	14,3	1	
	$IIIa_2$'	560,1	140,4	269,6	94,3	56,2	2	
	IIIb	35	8,2	6,2	8,2	12,4	2	
	IV	24,6	1,2	1,3	3,8	18,3	8	
	IV'	6,3	0,2	1,2	1,5	3,4	1	
	0	65	0	65	0	0	0	
	alle Typen	17353	11368,1	2517,3	1858,2	1609,4	115	0,5325

★ Wo nur eine einzige Bezeichnung angegeben ist, bezieht sich diese auf den Reaktionstyp in der F_1 und F_2, die dann als gleich oder annähernd gleich betrachtet werden. Soll aber die Reaktionstendenz in beiden Generationen deutlich verschieden sein, so werden die entsprechenden Typen getrennt, und zwar derjenige der F_1 an erster Stelle aufgeführt.

★★ gewonnen durch Summierung der Einzelergebnisse aus 101 Versuchen (vergl. Tabelle 4)

* empirische Werte sind nur für die Gesamtheit der Röhren 4a - IIa verfügbar

Erläuterung 2 (Anmerkung zur Tabelle 13)

Der Zusammenhang zwischen der angenommenen Häufigkeit von Individuen eines bestimmten Reaktionstyps in der unselektionierten F_1 und der, nach Ablauf der Selektionsprozedur, dann zu erwartenden Häufigkeit entsprechender Stämme in der F_2, also die zahlenmäßige Beziehung zwischen den Spalten 3 und 5 der Tabelle 13, ist durch folgenden Rechenprozess gegeben: Die Individuenzahl jedes Typs in der F_1 muß in drei dem Anreicherungsverfahren möglichst genau nachgebildeten Schritten reduziert werden, die also wiederum je drei Operationen umfassen, nämlich 1. die Aufspaltung der betreffenden Populationen gemäß den Standardverteilungen der Tabelle 12 (die Tabelle 13 zeigt das in der Spalte 4 am Beispiel des ersten Schritts), 2. die Selektion aus bestimmten Verteilungsklassen (IIIb und 4b im ersten Schritt) und 3. eine zusätzliche Verlustkorrektur, wie sie die Versuchsergebnisse der Tabelle 4 erforderlich machen. Was nach diesen drei Rechenschritten übrigbleibt ist die für jeden Reaktionstyp erwartete Anzahl isolierter F_1-Männchen. Eine weitere Korrektur, welche das Aussterben eines Teils der Linien berücksichtigt (vergl. Tabelle 5), führt schließlich zu den Erwartungswerten in der F_2, die, wenn es sich in der F_1 um sinnvolle Annahmen handeln soll, mit den tatsächlich gefundenen Häufigkeiten (Tabelle 12a, Spalte 5) übereinstimmen müssen.
Dieser in Worten nur schwer zu veranschaulichende Zusammenhang läßt sich leicht formalisieren:

$$H_R \xrightarrow{I} H_R \cdot S_R(I)$$

$$H_R \cdot S_R(I) \cdot V_I \xrightarrow{II} H_R \cdot S_R(I) \cdot S_R(II) \cdot V_I$$

$$H_R \cdot S_R(I) \cdot S_R(II) \cdot V_I \cdot V_{II} \xrightarrow{III} H_R \cdot S_R(I) \cdot S_R(II) \cdot S_R(III) \cdot V_I \cdot V_{II} \cdot V_{III}$$
$$= \text{isolierte } F_1 \text{ ♂♂}$$

$$\text{isolierte } F_1 \text{ ♂♂} \xrightarrow{\text{Kreuzung}} H_R \cdot S_R(I) \cdot S_R(II) \cdot S_R(III) \cdot V_I \cdot V_{II} \cdot V_{III} \cdot K$$
$$= Z_R$$

H_R = absolute Häufigkeit der Individuen eines Reaktionstyps in der unselektionierten F_1
S_R = Anteil der in den Schritten I, II oder III selektionier-

ten Individuen (nach Tab. 12a, Spalte 4 haben z. B. $S_R(I)$ und $S_R(II)$ für den Typ + den Wert 0,0555)

V = Korrekturgröße für Verluste nach Versuchsablauf jedes Schritts (V_I = 0,91, V_{II} = 0,85, v_{III} = 0,94)

K = Korrekturgröße für Verluste durch Kreuzung (K = 1 - 0,184 = 0,816)

Z_R = Anzahl der in der F_2 erwarteten Stämme des Typs R

Da die Größe von Z_R gegeben ist, kann H_R nach der Formel

$$H_R = \frac{Z_R}{S_R(I) \cdot S_R(II) \cdot S_R(III) \cdot V_I \cdot V_{II} \cdot v_{III} \cdot K}$$ bestimmt werden.

Die Berechnungen, welche zu den Zahlen der Tabelle 13 geführt haben, berücksichtigen im übrigen, daß mit einem Teil (mit 26%) der Versuchstiere nur zwei Anreicherungsschritte durchgeführt worden sind und der Selektionsmodus im dritten Schritt nicht immer der gleiche war.

tienten Q(F_1gesamt) vermindert. Eine Möglichkeit besteht darin, sich in der unselektionierten ersten Nachkommenschaft die Versuchstiere der einzelnen Typen nicht, wie in Tab. 12a vereinfachend angenommen, als gleichartig reagierende vorzustellen, sondern eine gewisse Variabilität des Verhaltens zuzulassen. Das entspricht der Wirklichkeit natürlich eher, läßt den Anteil der im Anreicherungsverfahren selektierten Individuen jedes Typs (die Größe S_R der Erläuterung 2) von Schritt zu Schritt wachsen, die Anzahl der in der F_1 zu fordernden Tiere also sinken, und führt, wenn man die sich ändernden Verteilungswahrscheinlichkeiten so wählt wie in Tabelle 12b angegeben, zum Modell B. Dieses stellt zwar eine Verbesserung dar, allerdings nur in völlig unzureichendem Maße. Bei den folgenden Modellen wird deshalb versucht, die Variation innerhalb der einzelnen Typen der F_1 (d.h. den Bereich von Unterschieden in der Reaktionstendenz sämtlicher unausgelesener Individuen, die jeweils Stämme eines bestimmten Typs hervorbringen) noch breiter zu wählen als für die Berechnungen zur Tabelle 12b vorausgesetzt. Dort bereits sollten F_1-Fliegen im Spiel sein, deren UV-Tendenz unterhalb der für die entsprechenden Stämme angesetzten unteren Typengrenze liegt (siehe die Skizze zur Tab. 12b); und zu prüfen was die Einbeziehung weiterer solcher, zumal stärker abweichender Individuen bewirkt, ist der Zweck der Modelle C_1, C_2 und C_3. Es werden hier, probehalber, Wildtypstämme nicht als Nachkommenschaften von +-Tieren betrachtet, sondern in möglichst großer Zahl auf F_1-Individuen zurückgeführt, welche durch die mittlere Reaktionstendenz der Typen II bzw. IIIa$_1$ bzw. IV charakterisiert sein sollen. Diese Fliegen nach der oben gegebenen Definition dem Wildtyp zuzuschlagen und konsequenterweise mit entsprechend veränderten Verteilungswahrscheinlichkeiten zu rechnen, erschien mir allerdings wenig zweckmäßig. Statt dessen habe ich sie als Vertreter desjenigen Typs betrachtet, dem sie aufgrund der ihnen zugeschriebenen Reaktionstendenz angehören würden, wobei die Festlegungen der Tabellen 12a und 12b gültig blieben. (Im übrigen sei hier, um

Tabelle 12b

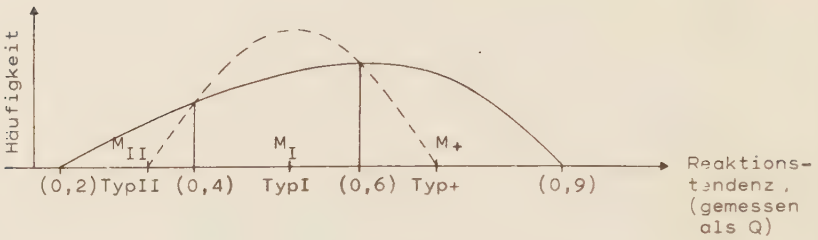
b) Festlegung selektiv veränderlicher Reaktionstypen in der F_1

Reaktionstypen	Standardverteilung im I., II. und III. Anreicherungsschritt (in %)*											
	Anreicherungsschritt I				Anreicherungsschritt II				Anreicherungsschritt III			
	4a/IIIa/IIa	I	IIb	IIIb+4b	4a/IIIa/IIa	I	IIb	IIIb+4b	4a/IIIa/IIa	I	IIb	IIIb+4b
+	80,1	7,61	6,71	5,55	75,3	8,3	8,9	7,5	70,5	9	11	9,5
+'	64,6	21,7	7,86	5,87	60	23,5	10	6,5	56	25	12	7
I	69,0	9,15	11,5	10,3	64,6	9,6	13,7	12,1	60,5	10	15,7	13,8
I'	54,8	25,7	12,4	7,11	49,8	30	12,9	7,25	44,2	35	13,4	7,4
II	59,0	10,4	16,3	14,3	56,1	11,2	16,5	16,2	53,2	12	16,8	18
II'	41,7	37,4	13,5	7,47	37,8	38,8	15,2	8,2	34	40,2	16,8	9

Anmerkungen zur Tabelle 12b:

* Die Werte für den ersten Anreicherungsschritt sind dieselben wie in Tabelle 12a, jedoch sollen sie jetzt, als Maß der mittleren Reaktionstendenz uneinheitlich zusammengesetzter F_1-Typen, die Bedeutung von Durchschnittswahrscheinlichkeiten haben. Diese müssen sich von Anreicherungsschritt zu Anreicherungsschritt ändern, und zwar im Sinne zunehmender Blautendenz; denn auf den mehr zum Blauen hin orientierten Individuen jedes Typs lastet ja ein geringerer Selektionsdruck. Die Beträge, um welche die Standardverteilungen der Tabelle sich verschieben, sind allerdings ohne jede experimentelle Grundlage frei erfunden. Ich bin dabei folgendermaßen vorgegangen: Als erstes war es notwendig zu bedenken, daß die in der Tabelle 12a festgelegten Typengrenzen, die auf den Q-Werten der Versuche in der F_2 - also auf Mittelwerten - basieren, nicht einfach mit den entsprechenden Grenzen einer individuell variierenden Reaktionstendenz in der F_1 identisch sein können, und zwar dann nicht, wenn alle diejenigen Fliegen der unselektionierten F_1, aus denen Stämme eines bestimmten Typs hervorgehen würden, selber als Vertreter eben dieses Typs gerechnet werden; derart zu verfahren legt aber das Ziel eines Rückschlusses von der F_2 auf die F_1 zunächst nahe. Auf die Frage, welche Variationsbreite in der F_1 jeweils (d.h. bei den einzelnen Typen) anzunehmen ist, läßt sich allerdings nur sehr vage antworten: sie wird jedenfalls größer sein als der entsprechende Bereich in der F_2; die Typen der F_1 überlappen einander, aber man weiß nicht wie stark. Um nun bei der Berechnung der Modelle überhaupt irgendeine Handhabe zu besitzen, wurde festgelegt, daß die individuelle Variation der Reaktionstendenz bei den Fliegen der einzelnen Typen in der unselektionierten F_1 die mittlere Tendenz der jeweils benachbarten Typen zwar erreichen, aber nicht überschreiten soll (siehe Skizze). Es muß also die im Anreicherungsprozess zu erwartende Verschiebung der Verteilungswerte z.B. des Reaktionstyps I (oder I') ein Ende finden, wenn die für den ersten Schritt festgelegten Wahrscheinlichkeiten von II (bzw. II') sich eingestellt haben. Das soll bereits nach zweimaliger Selektion annähernd geschehen sein. Was die Einzelheiten betrifft, so habe ich, wie ein Vergleich zwischen der 1.und 3. Spalte der Tabelle zeigt, die Veränderung, welche der Ausgangswert bis zum dritten Schritt erfährt, für den Wildtyp relativ groß gewählt und bei den übrigen Typen zunehmend kleiner, eine weitere Festlegung, die im Prinzip wenigstens gerechtfertigt erscheint, weil mit der Größe von Q auch der Selektionsdruck abfällt. In diesem Sinne habe ich der Einfachheit halber bei den Reaktionstypen $IIIa_1$ bis IV' auf variable Verteilungswahrscheinlichkeiten sogar ganz verzichtet. Es handelt sich hier ja auch im übrigen um Klassifizierungen gut abgegrenzter Verhaltensformen ausgeprägter Eigenart, deren Variabilität also ohnehin geringer sein dürfte als diejenige der mehr durch summarischen Zusammenschluß entstandenen Komplexe + bis II'.

Anmerkungen zur Tabelle 12b (Fortsetzung)



ausgezogene Kurve : Variation des Reaktionsquotienten Q bei der Gesamtheit der den Typen +, I und II zugeordneten Stämme (vergl. Abb. 6)

gestrichelte Kurve: angenommene Variation der Reaktionstendenz bei sämtlichen Fliegen der unselektionierten F_1, aus denen Stämme des Typs I hervorgehen würden. Diese leiten sich also zum Teil von Individuen ab, die nach den Kriterien der Tabelle 12a als Vertreter der Reaktionstypen II oder + klassifiziert worden wären.

Entsprechende Kurven für die Fliegen des Typs + und II sind nicht eingezeichnet.

Daß die genannten Annahmen tatsächlich zutreffen, wird keineswegs behauptet. Es geht vielmehr darum, bestimmte, die F_1 betreffende, grundsätzlich immerhin mögliche Festlegungen einfach vorzunehmen, um deren Auswirkungen auf das offensichtlich unzulängliche Modell A der Tabelle 13 prüfen zu können.

Mißverständnissen vorzubeugen, angemerkt, daß mit der Zuordnung von F_1-Fliegen zu bestimmten Reaktionstypen natürlich nichts über die genetische Konstitution der betreffenden Individuen ausgesagt werden soll. Es handelt sich dabei also zunächst um reine Phänotypen und nur potentiell auch um "Mutantentypen".)[1] – Wie nicht anders zu erwarten war, ist aber keine der drei vorgestellten Lösungen voll befriedigend: Modell C_1 nähert sich der geforderten Gesamthäufigkeit von F_1-Tieren zwar an und Modell C_2 erreicht dieselbe endlich ganz, jedoch nur um den Preis viel zu niedriger $Q(F_1 gesamt)$-Werte; eine immerhin beachtliche, wenngleich nicht ausreichende Anpassung auch des mittleren Reaktionsquotienten bringt das Modell C_3. Letzteres kommt den Befunden offenbar deshalb am nächsten, weil man, um die erste Nachkommenschaft auf den gewünschten Umfang zu reduzieren, +-Tiere nur durch ziemlich wenige Individuen des Extremtyps IV zu ersetzen braucht und folglich eine gewisse Anzahl von Wildtypfliegen zurückbehält; diese wirken einem allzu starken Abfall der kritischen Größe $Q(F_1 gesamt)$ entgegen, während jene – eben ihrer geringen Häufigkeit wegen – als Ursache für ein Sinken des Reaktionsquotienten kaum ins Gewicht fallen. Der Vergleich zwischen den Modellen C_1 bis C_3 läßt vermuten, daß eine Hypothese über die Zusammensetzung der F_1, welche die beiden Forderungen nach einer Individuenzahl unter 18000 und einem $Q(F_1 gesamt)$ von über 0,51 in Einklang bringen will, ohne die Annahme von Fliegen mit starker eigener Blautendenz, aber normaler oder schwach abnormer Nachkommenschaft gar nicht auskommen kann. Solche Tiere bestimmen denn auch wieder das Modell D, das gegenüber C_3 noch einige Verbesserungen aufweist. Zum einen habe ich den mittleren Reaktionsquotienten weiter angehoben, indem konsequenterweise auch Fliegen der Typen I bis II' (die durch den Wechsel von Hypothese B nach C ein Übergewicht erhalten haben) gegen extrem abnorme Individuen ausgetauscht worden sind, so daß sich die Zahl der +-Tiere vergrößern ließ. Zum anderen war es meine Absicht, die Variationsbreite innerhalb der F_1 nicht nur – sehr einseitig – durch

[1] Eine Beschreibung von Mutantentypen wird erst später (Tab. 17a) versucht.

Fliegen des Typs IV zu erweitern, sondern ein möglichst ausgewogenes Spektrum von Individuen anderer Reaktionstendenz mit einzubeziehen. So ist - nach langem Drehen und Wenden - ein System aufgefächerter, sich breit überlappender "Typenbereiche" entstanden, welches jedenfalls den Anforderungen der in Wirklichkeit gefundenen Gesamtverteilung recht gut entspricht. Daß auch die Ergebnisse der Versuche des zweiten und dritten Anreicherungsschritts mit den Erwartungswerten des Modells D einigermaßen übereinstimmen, zeigt die Tabelle 14. Eine bessere Annäherung an den empirischen Wert von $Q(F_1 \text{gesamt})$ im Schritt III war nicht zu erreichen; weitere Veränderungen des beschriebenen Konzepts erscheinen aber nicht sinnvoll.

Wenngleich selbst die beste der vorgeschlagenen Hypothesen nicht beanspruchen kann, die Merkmalsstruktur der ersten Nachkommenschaft zuverlässig zu rekonstruieren, so tragen sie doch alle dazu bei, den hier erörterten Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der F_1 und F_2 in mancher Hinsicht grundsätzlich zu klären. Folgendes wird jetzt deutlich: Die oben gestellte Frage, warum die Fliegen der unselektionierten F_1 einen so niedrigen mittleren Reaktionsquotienten zeigen, obgleich sich doch in der F_2 nur relativ wenige Mutanten mit überwiegender Blautendenz vorfinden, beruht offensichtlich auf einer zu engen Sicht der Zusammenhänge und einer falschen Einschätzung der durch das Anreicherungsverfahren ausgeübten Wirkung. Natürlich wären viel mehr Mutanten der Reaktionstypen III und IV zu erwarten, wenn man nur solche in Betracht zieht. Doch bildet gerade die relativ große Häufigkeit von Stämmen mit viel weniger verändertem Verteilungsverhalten (Typen I bis II') den Schlüssel zum Verständnis der Beziehungen zwischen den Generationen. Diese Stämme müssen, falls sie - wenigstens zum größeren Teil - von Fliegen mit ebensolchen Reaktionen abstammen, in der ersten Nachkommenschaft durch eine sehr hohe Anzahl von Tieren repräsentiert gewesen sein (43% in Modell D), um - trotz des starken negativen Selektionsdrucks auf ihre Vorfahren - in der F_2 noch so häufig in Erscheinung treten zu können. Die Versuchsergebnisse der

Tabelle 14

Vergleich zwischen dem aufgrund von Modell D erwarteten und dem tatsächlich gefundenen mittleren Reaktionsquotienten in der ersten Nachkommenschaft

Anreicherungsschritt		I	II	III
Q (F_1 ges.)	Befund nach Tabelle 4	0,532±0,08[1]	0,297±0,111	-0,301±0,423
	Erwartung nach Modell D	0,533	0,279	-0,174

F_1 wären also in erheblichem Maße von Fliegen des Reaktionstyps I und II geprägt worden; und deshalb braucht man sich weder über einen, wie es schien, verhältnismäßig niedrigen mittleren Reaktionsquotienten bei den Versuchen des ersten Anreicherungsschritts zu wundern noch bei denen des zweiten über anscheinend zu hohe Q-Werte (vergl. Tabelle 14).
Die Häufigkeit von Stämmen mit abweichenden Eigenschaften im Phototaxistest steht demnach mit den Versuchsergebnissen in der F_1 nicht in Widerspruch. Schwierigkeiten bestehen dagegen bei den Normalstämmen - das ist jetzt ebenfalls klarer geworden -, deren (nach Modell A) viel zu große Anzahl allerdings nach einer besonderen Erklärung verlangt.[1] Im Sinne einer rein formalen Abhilfe im Modell hat es sich zunächst als möglich erwiesen, F_1-Fliegen anzunehmen, die zwar selber das Verhalten von Mutanten zeigen, jedoch normale Nachkommen hervorbringen. Um was für Tiere könnte es sich dabei handeln? Es können natürlich Träger modifikativer (d.h. nicht erblicher) Merkmale oder homozygot rezessiver Allele sein, wie sie auch in einer nicht dem EMS ausgesetzten Kontrollpopulation in unbekannter, wenn auch vielleicht nicht der im Modell D angesetzten Häufigkeit vorkommen mögen. Sollte aber die Entstehung der betreffenden Individuen, zumindest bei einem Teil der Fälle, durch das Mutagen mitbedingt sein, so

[1] Die Anzahl der +-Stämme ist sogar noch erheblich höher, wenn man zu den Ergebnissen der zweiten Nachkommenschaft noch die der dritten hinzunimmt (vergl. Fußnote1 S. 63).

erscheint es am wenigsten abwegig, Mosaiktiere anzunehmen, bei denen das Soma in den relevanten Bereichen verändert, die Keimbahn dagegen normal ist. Eine entsprechende Erklärung kann auch für diejenigen F_1-Fliegen stärker abnormer Reaktionstendenz gelten, welche (im Modell D) zu Stämmen der "gemäßigten" Reaktionstypen I bis II' führen, sowie im umgekehrten Sinne (sofern man sich die Keimbahn verändert und das Soma normal denkt) in den Fällen, wo Normaltiere als Vorfahren aberranter Stämme angesehen worden sind. Welche Bedeutung Mosaiktieren für das Verhalten der ersten Nachkommenschaft EMS-behandelter Fliegen - nicht so sehr grundsätzlich, sondern in quantitativer Hinsicht - wirklich zukommt, vermag ich nicht abzuschätzen. Jedenfalls entspricht das in dieser Arbeit gefundene Phänomen, daß die Nachkommen - wie es scheint - "zu vieler" abnormer F_1-Tiere sich als normal herausstellen, den in der Regel nicht publizierten Ergebnissen mehrerer Autoren (T. Kikuchi; v. Schilcher, persönliche Mitteilung), die auf ähnliche Weise nach Verhaltensmutanten gesucht haben, wie auch eigenen, früheren Erfahrungen, und Mosaiktiere mögen hier immerhin eine, vielleicht wenig beachtete, aber an sich naheliegende Erklärung sein.

b) Die - gemessen an den Schlußfolgerungen - doch recht umständlichen Exkurse des voranstehenden Abschnitts mögen ihre Berechtigung dadurch erhalten, daß sie es erleichtern, sich genauere Vorstellungen über die Effektivität des in dieser Arbeit angewendeten Verfahrens zur Gewinnung von Mutanten zu machen. Rein qualitativ hat das beschriebene Vorgehen wohl seinen Zweck erfüllt, insofern es überhaupt spezifische Mutanten hat finden lassen und dies zudem mit einer Ausbeute (1 Mutante der Gruppen 6 und 7 der Tab. 9 unter 1300 F_1-Tieren), welche größenordnungsmäßig derjenigen von Benzer, Pak und Heisenberg nicht nachsteht. Allerdings dürften meine Phototaxisversuche, trotz Automatisierung, insgesamt aufwendiger sein als Benzers und - besonders - Paks Tests, weshalb es nützlich ist zu fragen, ob

sich nicht manches rationeller durchfuhren und so die Leistungsfähigkeit der Methode optimaler ausschöpfen ließe.

Ich will mich hier nicht in detaillierte Anderungsvorschläge zur Versuchspraxis verstricken (obgleich manches zu vereinfachen wäre). Auch erscheint es mir nicht lohnend, Möglichkeiten zu nennen, wie man auf der Isolierungsstufe des Verfahrens den Umsatz an F_1-Fliegen noch steigern könnte; denn dieser ist mit 1000 bis maximal 1500 Tieren pro Tag wirklich hoch genug (es besteht deshalb auch kein Grund, wie Pak auf einen Test zu verzichten, der ausreichend reproduzierbare, das geprüfte Verhalten einigermaßen gut quantifizierende Ergebnisse liefert). Doch halte ich es für der Mühe wert, nachträglich - gestützt auf die bisher gesammelten Erfahrungen - zu klären, auf welche Weise und in wieviel Anreicherungsschritten F_1-Fliegen ausgelesen werden müßten, damit die mühselige Arbeit der Durchführung vieler Phototaxisversuche soweit als möglich erleichtert wird und trotzdem ertragreich genug bleibt.

Um Kriterien zur Lösung der genannten Frage zu gewinnen, beginne ich mit der Definition eines mathematischen Ausdrucks, der angibt, eine wie hohe Anreicherung man für irgendeinen bestimmten Mutantentyp im Phototaxistest erwarten sollte, und versuche dann, diesen "Anreicherungsgrad" (den relativen Zuwachs an Mutanten je Test) - soweit möglich - auf der Grundlage der empirisch gewonnenen Ergebnisse zu bestimmen. Die Erlauterung 3 erklärt das in allen Einzelheiten und die Tabelle 15 gibt das Resultat entsprechender Berechnungen. Diese basieren entweder auf den Ergebnissen der Isolierungsversuche selbst und bleiben dann natürlich auf die ersten drei Anreicherungsschritte beschrankt, oder sie bemühen die - notgedrungen spekulativen - Annahmen des Modells D (Tab. 13) über die phänotypische und - in vagen Ansätzen - die genetische Zusammensetzung der ersten Nachkommenschaft. Da beide Methoden zu einigermaßen ähnlichen Resultaten kommen (siehe auch Abb. 7A und 7B), mag es erlaubt sein, für die Analyse des Anreicherungsgeschehens, wo experimentelle Werte fehlen, die mehr hypothetischen heran-

Erläuterung 3

Definition und Bestimmung des Anreicherungsgrads im Phototaxisversuch

1) In der Population der unselektionierten ersten Nachkommenschaft sei ein bestimmter Mutantentyp M (z.B. der Typ IV der Tab. 12a) in der absoluten Häufigkeit $H_M(0)$ und der relativen Häufigkeit $x_M(0) = H_M(0) / Hgesamt(0)$ vorhanden. Wird jetzt ein Phototaxisversuch mit nachfolgender, die betreffenden Mutanten begünstigender Selektion durchgeführt (erster Anreicherungsschritt), dann sollte in der daraus hervorgehenden neuen Population die relative Häufigkeit der Mutanten $x_M(1) = H_M(1) / Hges.(1)$ auf einen höheren Wert ansteigen. Davon ausgehend definiere ich den Anreicherungsgrad A_M als denjenigen Faktor, um welchen die relative Häufigkeit der betrachteten Mutanten in der Folge eines Anreicherungsschritts zunimmt. Für den ersten Schritt gilt also

$$A_M(1) = \frac{x_M(1)}{x_M(0)} = \frac{H_M(1)}{Hges.(1)} \cdot \frac{Hges.(0)}{H_M(0)} = \frac{H_M(1)}{H_M(0)} \cdot \frac{Hges.(0)}{Hges.(1)} =$$

$$= \frac{S_M(1)}{Sges.(1)}$$

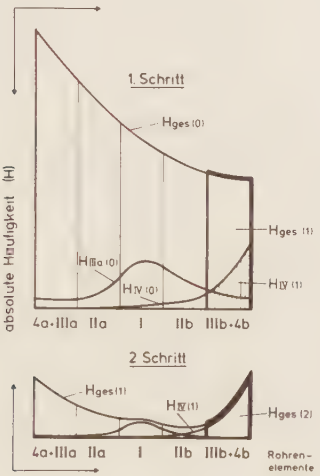
und allgemein (für die Anreicherung im n-ten Schritt)

$$(1) \qquad A_M(n) = \frac{x_M(n)}{x_M(n-1)} = \frac{S_M(n)}{Sges.(n)}$$

Dabei bezeichnet $S_M(n)$ - und entsprechend Sges.(n) - den Anteil H(n) / H(n-1) der von den Tieren des Typs M - bzw. der Gesamtheit der Tiere - im n-ten Anreicherungsschritt selektionierten Fliegen. Die Größe von S (= Selektionsfaktor) [1] ist der Stärke der jeweils ausgeübten Selektion, der jeweiligen Selektionsdruck, umgekehrt proportional. Das auf der nächsten Seite folgende Diagramm soll das anschaulich machen.

[1] es handelt sich hier um denselben Ausdruck wie in der Erläuterung 2

Schematische Darstellung der Wirkung zweier aufeinanderfolgender - hier der ersten beiden - Anreicherungsschritte am Beispiel der Mutantentypen IV und IIIa vor dem Wildtyp-Hintergrund +.



Das Diagramm zeigt die Verteilung der Fliegen auf die Röhrenelemente des Phototaxisapparats. Alle Häufigkeitsverteilungen sind daher als Histogramme aufzufassen.
Die schwarz umrandete Gesamtfläche symbolisiert die Ausgangspopulation im ersten bzw. zweiten Anreicherungsschritt, das rot umrandete Feld das durch Selektion jeweils neu gewonnene Fliegenkollektiv. - Die Größe des Selektionsfaktors $S(1) = H(1) / H(0)$ bzw. $S(2) = H(2) / H(1)$ hängt stets von der Häufigkeitsverteilung der betrachteten Fliegen und von der Art der zur Anreicherung führenden Gesamtauswahl (d.h. der Lage und Größe des rot umrandeten Feldes) ab. In dem oben stehenden Beispiel (das der Realität nicht genau entsprechen, sondern nur der groben Charakterisierung dienen soll) ist offensichtlich $S_{IV}(1) > S_{ges.}(1)$ - und entsprechendes gilt für den zweiten Schritt -, der auf die Mutanten

des Typs IV ausgeübte Selektionsdruck - gemessen an dem auf der Gesamtpopulation lastenden - also relativ gering. Eben darauf beruht der anreichernde Effekt. Dieser ist für die Fliegen des Typs IIIa weniger groß, da $S_{IIIa} > S_{IV}$.

2) Die Bestimmung des Anreicherungsgrads ist somit möglich, wenn sich für den jeweils betrachteten Mutantentyp (M) sowie für die Gesamtheit der Population der Selektionsfaktor (S) empirisch ermitteln läßt. Zum Zwecke einer Abschätzung annehmbare Werte von S_M (deren Verläßlichkeit allerdings von früher genannten vereinfachenden Voraussetzungen abhängt) enthielt bereits die Tabelle 12a. Demnach beträgt z.B. S_{IV} in den ersten beiden Anreicherungsschritten (in welchen aus den Röhren IIIb und 4b selektioniert worden ist) 0,746, im dritten (bei Auslese auch aus der Röhre IIb) 0,746 + 0,155 = 0,901. Die Bestimmung des Selektionsfaktors S_M ist also durchaus einfach, sofern das Verteilungsverhalten des betreffenden abnormen Typs durch ausreichende experimentelle Daten klar definiert wird - Art und Weise der ausgeübten Selektion stehen ohnehin fest. Wenn im übrigen beides - Selektion und Verhalten - sich in der Aufeinanderfolge der Anreicherungsschritte nicht ändern, bleibt auch S_M konstant. Dessen Werte wären dann für beliebig viele Schritte verfügbar (also "selektionsneutral" im Sinne der Tabelle 12a), eine Unterstellung freilich, die streng genommen selbst für den gut abgegrenzten Mutantentyp IV nicht zutreffen dürfte. - Grundsätzlich anders jedoch liegen die Dinge im Falle des Selektionsfaktors Sges.. Denn die Gesamtpopulation jedes Anreicherungsversuchs bildet ja - im Gegensatz zu einer bestimmten Gruppe etwa gleichartiger Mutanten - auch nicht annähernd ein im Verhalten einheitliches Kollektiv, sondern besteht zweifellos aus Reaktionstypen der verschiedensten Art. Da sich aber die zahlenmäßige Zusammensetzung des Fliegenkollektivs und folglich dessen Gesamtverteilung im Phototaxisapparat während des Anreicherungsprozesses fortlaufend - und zwar gravierend - ändert (vergl. das Diagramm), nimmt auch Sges. von Schritt zu Schritt entscheidend neue Werte an. Von diesen sind die ersten drei experimentell bekannt; sie wur-

den schon in der Tabelle 4 (letzte Spalte) aufgeführt. Eine rechnerische Abschätzung von Sges., die über den dritten Anreicherungsschritt hinausgeht, ist allerdings nicht so leicht möglich; man müßte schon versuchen, für jeden Schritt neu die Beiträge, welche sämtliche Reaktionstypen der betreffenden Fliegenkollektive jeweils zum Gesamtwert von S liefern, getrennt zu bestimmen und dann zusammenzufassen. Ein solches Vorgehen könnte dann zu einer Lösung führen, wenn der Selektionsfaktor S_R jedes einzelnen Reaktionstyps als grundsätzlich bestimmbar angesehen werden dürfte; eine Schwierigkeit lage freilich immer noch in der von Schritt zu Schritt sich ändernden Häufigkeit aller Typen. Eine dieses letztere Problem betreffende Formel zur Berechnung von Sges. für beliebige Schritte n kann folgendermaßen abgeleitet werden:

Definitionsgemäß ist $Sges.(n) = \frac{Hges.(n)}{Hges.(n-1)} = \frac{\sum H_R(n)}{\sum H_R(n-1)}$

($\sum H_R(n)$ bezeichnet hier die Summe aller Häufigkeiten H, mit denen die einzelnen Reaktionstypen R nach dem n-ten Anreicherungsschritt im selektierten Fliegenkollektiv vorkommen, $\sum H_R(n-1)$ die Summe der entsprechenden Häufigkeiten vor dem n-ten Schritt bzw. nach dem (n-1)-ten);

und da

$$H_R(n) = H_R(n-1) \cdot \frac{H_R(n)}{H_R(n-1)} = H_R(n-1) \cdot S_R(n)$$

und entsprechendes für $H_R(n-1)$ gilt, ist

$$(2a) \qquad Sges.(n) = \frac{\sum H_R(n-1) \cdot S_R(n)}{\sum H_R(n-2) \cdot S_R(n-1)}$$

(dabei bedeutet $\sum H_R(n-1) \cdot S_R(n)$ die Summe aller Produkte aus dem Selektionsfaktor S(n) jede. Reaktionstyps und der jeweils zugehörigen Häufigkeit H(n-1) vor der Selektion, und $\sum H_R(n-2) \cdot S_R(n-1)$ meint das gleiche in Bezug auf den vorangegangenen Schritt).

Folglich ließe sich der Anreicherungsgrad mit Hilfe der Beziehung

$$(2) \qquad A_M(n) = S_M(n) \cdot \frac{\sum H_R(n-2) \cdot S_R(n-1)}{\sum H_R(n-1) \cdot S_R(n)}$$

für jeden beliebigen Schritt berechnen. Voraussetzung bleibt

jedoch - zur Bestimmung von S_R bzw. S_M - die Kenntnis des Verteilungsverhaltens aller Reaktionstypen in (genau genommen) sämtlichen Anreicherungsschritten; und, um die Werte $H_R(n)$ ermitteln zu können, muß man natürlich wissen, von welchen Häufigkeiten in der unselektionierten ersten Nachkommenschaft $\left(H_R(n=0)\right)$ der Rechenprozess überhaupt auszugehen hat. Die Spärlichkeit der zur Verfügung stehenden Versuchsergebnisse läßt hier keine andere Wahl, als die im vorangegangenen Abschnitt (a) vorgeschlagenen Festlegungen und Hypothesen zu Hilfe zu nehmen.

Tabelle 15

Liste der verschiedenen Anreicherungsgrade, wie sie für Mutanten des Typs IIIa$_1$ und IV im ersten bis fünften Schritt der Isolierungsversuche mit Fliegen der ersten Nachkommenschaft erwartet werden; bei den Berechnungen wurden entweder die experimentellen Ergebnisse der Tabelle 4 (letzte Spalte) und die Formel (1) der Erläuterung 3 benutzt oder die Formel (2) und das Modell D der Tabelle 13 zugrunde gelegt. Die Tabelle enthält außerdem die Werte der zugehörigen Gesamtanreicherung; Berechnungen nach Gleichung (3) bzw. (4).

			Anreicherungsgrad einzelner Schritte (n)						
		Grundlage der Berechnungen	1.Schritt a	2.Schritt a	3.Schritt b	3.Schritt a	4.Schritt a	5.Schritt a	z-ter Schritt n→∞ a
"Mutanten-typen"	IIIa$_1$	Ergebnisse nach Tab.4	2,52	1,30	0,799	0,752			
		Modell D	2,53	1,39	0,785	0,664	0,413	0,344	0,315
	IV	Ergebnisse nach Tab.4	8,01	4,14	1,78	2,39			
		Modell D	8,03	4,41	1,75	2,11	1,31	1,09	1
Spalte			1	2	3	4	5	6	7

			Gesamtanreicherung bis einschließlich Schritt							
		Grundlage der Berechnungen	1 α	2 α	3 α	4 α	5 α	z n→∞ α	3	3
"Mutanten-typen"	IIIa$_1$	Ergebnisse nach Tab.4	2,52	3,29	2,47				2,63	2,91
		Modell D	2,53	3,51	2,33	0,961	0,331	0	2,75	
	IV	Ergebnisse nach Tab.4	8,01	33,2	79,3				59,05	46,0
		Modell D	8,03	35,4	74,6	97,9	107,0	115,2	61,9	
Spalte			8	9	10	11	12	13	14	15

Erläuterungen zur Tabelle 15

Die Gesamtanreicherung Ages.(n) vom 1. bis zum n-ten Schritt ist definiert als das Produkt der Anreicherungsgrade A(n) bis zum n-ten Schritt einschließlich:

$$Ages.(n) = A(1)\cdot A(2)\cdot A(3)\cdots \cdot A(n)$$

$$\frac{x_M(1)}{x_M(0)} \cdot \frac{x_M(2)}{x_M(1)} \cdot \frac{x_M(3)}{x_M(2)} \cdots \cdot \frac{x_M(n)}{x_M(n-1)} = \frac{x_M(n)}{x_M(0)}$$

Da aber $x_M(n)$ - die relative Häufigkeit der betrachteten Mutanten nach dem n-ten Schritt - gleich

$$\frac{H_M(0)\cdot S_M(1)\cdot S_M(2)\cdots \cdot S_M(n)}{Hges.(0)\cdot Sges.(1)\cdot Sges.(2)\cdots \cdot Sges.(n)}$$ (was nichts anderes darstellt als eine erweiterte, auf relative Häufigkeiten bezogene allgemeine Formulierung des in der Erläuterung 2 wiedergegebenen Rechenschemas), gilt

$$Ages.(n) = \frac{x_M(n)}{x_M(0)} = \frac{H_M(0)\cdot S_M(1)\cdots \cdot S_M(n)}{Hges.(0)\cdot Sges.(1)\cdots \cdot Sges.(n)} \cdot \frac{Hges.(0)}{H_M(0)}$$

oder (nachdem $H_M(0)$ und Hges.(0) entfallen) in abgekürzter Schreibweise

$$(3) \qquad Ages.(n) = \frac{\bar{F}^n(S_{\cdot})}{\bar{F}^n(Sges.)} \quad .$$

Diese Formel kann allerdings nur benutzt werden, wenn die Werte von Sges. bekannt sind. Ist das nicht der Fall, so erlaubt die Gleichung (2a) der Erläuterung 3 folgende Umrechnung:

$$\bar{F}^n(Sges.) = \frac{\sum H_R(0)\cdot S_R(1)}{\sum H_R(0)\cdot 1} \cdot \frac{\sum H_R(1)\cdot S_R(2)}{\sum H_R(0)\cdot S_R(1)} \cdots \cdot \frac{\sum H_R(n-1)\cdot S_R(n)}{\sum H_R(n-2)\cdot S_R(n-1)}$$

$$= \frac{\sum H_R(n-1)\cdot S_R(n)}{Hges.(0)} \quad . \text{ Somit ist}$$

$$(4) \qquad Ages.(n) = \bar{F}^n(S_M) \cdot \frac{Hges.(0)}{\sum H_R(n-1)\cdot S_R(n)} \quad .$$

Erklärung der in Tabelle 15 benutzten Symbole:

a: die Selektion erfolgt aus den Röhren IIIb und 4b des Phototaxisapparats

b: Selektion erfolgt aus IIb, IIIb und 4b

x: Selektion in allen Schritten aus IIIb und 4b

i: Selektion aus IIIb und 4b in den ersten beiden Schritten, im dritten dann aus IIb, IIIb und 4b wie bei 43% der geprüften F_1

y: mittlere, in samtlichen Isolierungsversuchen erzielte Gesamtanreicherung $\bar{A}ges.$. Eine gesonderte Berechnung ist hier erforderlich, weil leider 26% der F_1-Tiere in nur zwei Schritten geprüft wurden (Selektion wie in a), 74% in drei Schritten, wobei die Selektion im dritten Schritt überwiegend wie in b, zum Teil aber auch wie in a und gelegentlich sogar aus den Röhren I bis 4b erfolgte. Die Endpopulation der schließlich isolierten F_1-Fliegen bestand also aus vier Teilpopulationen mit unterschiedlicher Gesamtanreicherung Ages.(i). Die im ganzen erwartete, "mittlere" Gesamtanreicherung $\bar{A}ges.$ ergibt sich nun allerdings nicht aus dem simplen, "ungewogenen" arithmetischen Mittel aller Ages.(i), sondern muß nach folgender Formel bestimmt werden:

$$(5) \qquad \bar{A}ges. = \frac{\overline{\sum \left(fi \cdot \overset{n}{F}(S_M)i \cdot Vges.i \right)}}{\overline{\sum \left(fi \cdot \overset{n}{F}(Sges.)i \cdot Vges.i \right)}}$$

fi: relative Häufigkeit der nach einem bestimmten Schema (i) angereicherten Fliegen in der Ausgangspopulation (z.B. 0,26 für den ersten der oben genannten vier Fälle)

$\overset{n}{F}(S_M)i$ bzw. $\overset{n}{F}(Sges.)i$: Produkt der in i wirksam gewordenen S_M- bzw. Sges.-Werte

Vges.i: Korrekturgröße für den im Verlauf der Anreicherung i insgesamt aufgetretenen Verlust, der natürlich bei nur zwei Schritten kleiner ist als bei drei Schritten (vergl. Erläuterung 2). Vges. kürzt sich bei der Ableitung der Größe Ages.(n), die immer nur für einen einzelnen Anreicherungsweg gilt, weg und wurde deshalb früher (s. Gleichung 3) fortgelassen. In die Berechnung des "gewogenen" Mittels $\bar{A}ges.$ gehen die jeweiligen Verluste dagegen ein, weil sie dort als nicht-ausklammerbare Faktoren der in Zähler und Nenner enthaltenen Summen auftreten.

zuziehen. Die insgesamt verfügbaren Daten lassen folgende, mir bemerkenswert erscheinende Tatsachen und Zusammenhänge erkennen:

1. Unter den in dieser Arbeit angewendeten Bedingungen hat sich ein nennenswerter Anreicherungserfolg (ablesbar aus den beiden letzten Spalten der Tabelle 15) offensichtlich nur bei Mutanten stark abnormer Reaktionstendenz einstellen können. Bereits für den Typ $IIIa_1$ war das in drei Schritte gegliederte Isolierungsverfahren kaum noch effektiv.[1] Obwohl die Phototaxisversuche bewußt auf eine mehr für extreme Mutanten optimale Auslese angelegt wurden, hatte ich nicht erwartet, daß Fliegen zwar nur mittelmäßiger, aber immerhin doch schon beachtlicher Blautendenz nicht mehr als nur in ganz bescheidenem Umfang am Selektionsvorteil partizipieren würden.

2. Der in jedem einzelnen Schritt erzielte Anreicherungsgrad sinkt von Schritt zu Schritt erheblich ab und erreicht sehr bald die Nähe eines Grenzwertes, welcher bei dem am meisten begünstigten Mutantentyp 1 beträgt und für die von diesem relativ schnell verdrängten anderen Typen wesentlich niedriger liegt. Die graphische Darstellung A der Abbildung 7 macht das anschaulich. Nun gehört es zwar zum Wesen eines Anreicherungsvorgangs, daß der relative Zuwachs selektiv bevorzugter Komponenten am Anfang am größten ist und dann in dem Maße abnimmt, wie die benachteiligten Komponenten ausscheiden, bis zuletzt - wenigstens theoretisch - eine homogene Gesamtheit optimal angepaßter Formen übrigbleibt (in den Begriffen der Erläuterung 3 ausgedrückt: $A_M = S_M/Sges. \rightarrow 1$, wenn $Sges. \rightarrow S_M$); doch hat mich überrascht, wie schnell die Isolierungsversuche in dieser Weise an Wirksamkeit verlieren.

3. Die Größe des Anreicherungsgrads im ersten Schritt und seine Änderung in der Abfolge weiterer Schritte - beides

[1] Ob der Reaktionstyp $IIIa_1$ der Tabelle 12a tatsächlich von genetisch stabilen Mutanten gebildet wird, soll hier natürlich nicht unterstellt werden. Die Berechnungen demonstrieren lediglich, was mit Mutanten der betreffenden Reaktionstendenz im Anreicherungsverfahren geschehen würde, falls es sie tatsächlich gäbe.

Abbil 7 A - D

Hypothetische und empirische Anreicherungsfunktionen: die Abhängigkeit des Anreicherungsgrads A(n) (A und C) sowie des Gesamtanreicherungsgrads Ages.(n) (B und D) von der Zahl der Anreicherungsschritte. - In allen Fällen handelt es sich um diskrete, nicht um stetige Funktionen; die Art der Auftragung dient lediglich einer übersichtlicheren Charakterisierung.

Erläuterungen zu den Diagrammen A und B (Graphische Darstellungen nach Tabelle 15)

Die dick ausgezogene Kurve bezieht sich auf die Annahmen des Modells D, die durch dünnere Striche verbundenen Werte beruhen auf den Ergebnissen der Tabelle 4. Die Bedeutung der Symbole $\alpha - \gamma$, a und b ist dieselbe wie in der Tabelle 15.

Die erwartete prozentuale Mutantenhäufigkeit $x_M(n) \cdot 100$ kann nach der Gleichung $x_M(n) \cdot 100 = Ages.(n) \cdot x_M(0) \cdot 100$ berechnet werden. Die auf der Ordinate angegebenen Zahlen gelten für den Mutantententyp IV und die Bedingungen der Kurve a. Der Wert von $x_{IV}(0)$, der relativen Häufigkeit der Mutanten des Typs IV in der F_1, wird dabei nach Tabelle 13 auf 0,0014 geschätzt.

Erläuterungen zu den Diagrammen C und D

Die jeweils angenommenen Ausgangspopulationen des Anreicherungsprozesses bestehen aus Fliegen des Mutantentyps IV $\left(x_{IV}(0) = 0{,}0014\right)$ und folgendem Rest:

Hintergrund + : Wildtypfliegen (nach Tabelle 12b)

Hintergrund I/+ : Fliegen des Reaktionstyps I und des Wildtyps (beide nach Tab. 12b) im Verhältnis 3 : 1

Hintergrund $IIIa_1$: Fliegen des Typs $IIIa_1$ (nach Tab.12a)

Modell C_2 bzw. D : Restpopulation wie im Modell C_2 bzw. D

Abbildung 7 A und B

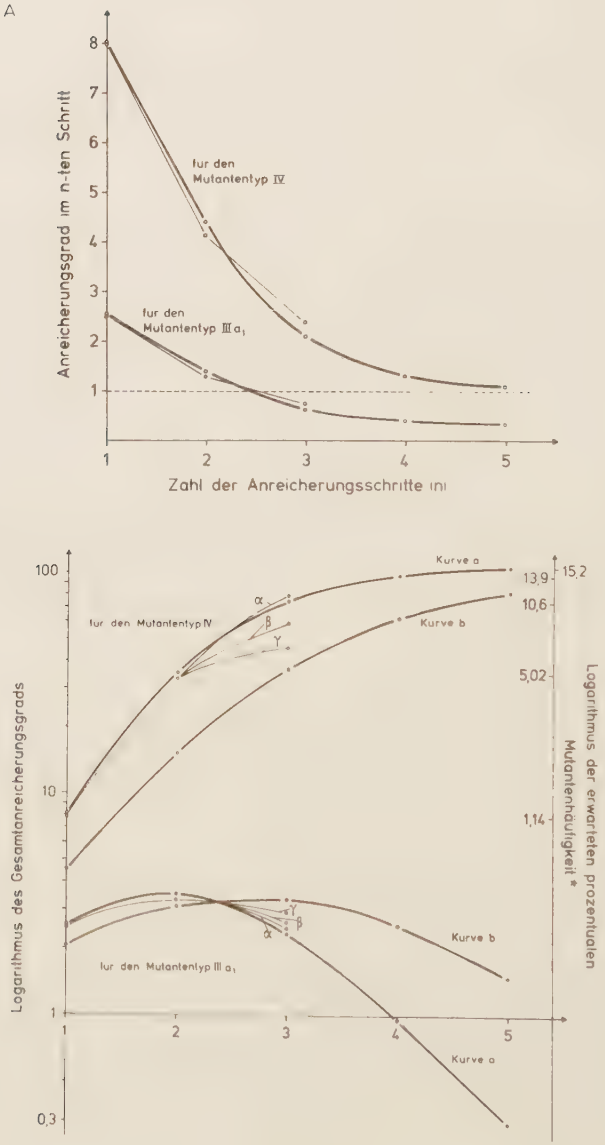
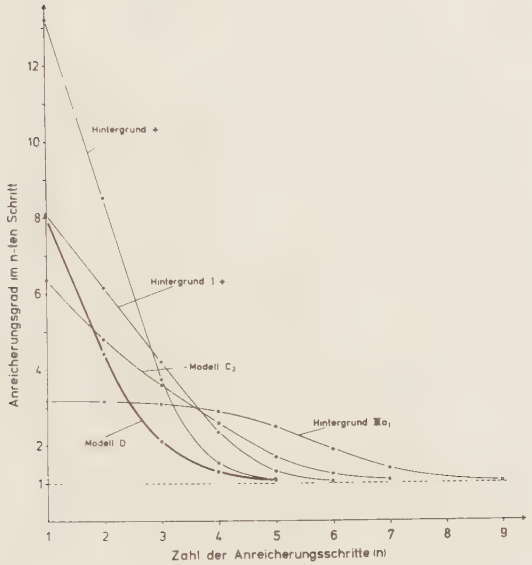
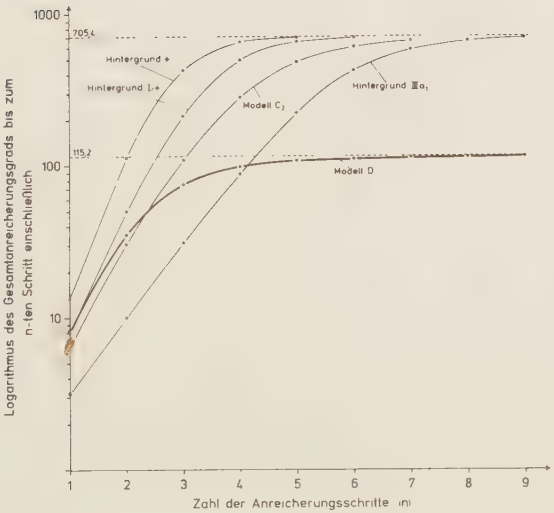


Abbildung 7 C und D

C



D



zusammen ergibt, was ich als "Anreicherungsfunktion" bezeichnen möchte - liegen für eine gegebene Mutante nicht fest, sondern hängen von der genotypischen und phänotypischen Zusammensetzung der Restpopulation ab, also gewissermaßen vom Hintergrund, vor dem sich die betreffende Mutante ansammelt. Dies zeigt - am Beispiel des Mutantentyps IV - das Diagramm C der Abbildung 7. Wie man dort außerdem noch sieht, fällt die Anreicherungsfunktion für das Modell D (dick ausgezogene Kurve), das die experimentellen Ergebnisse am besten vertritt, deutlich aus der Reihe anderer hypothetischer Möglichkeiten: trotz mäßiger Ausgangsgröße sinkt der Anreicherungsgrad im zweiten und dritten Schritt ungewöhnlich steil ab. Der oben (unter Punkt 2) zunächst nur vage angesprochene sehr rasche Effizienzverlust des Anreicherungsverfahrens erweist sich also jetzt als Folge der besonderen Populationsstruktur der F_1. Deren Zusammensetzung wird vom Modell D insofern grundsätzlich anders beschrieben als von den übrigen, der Wirklichkeit offenbar nicht entsprechenden Hypothesen des Diagramms C, als zum "Hintergrund" auch solche Fliegen gehören sollen, welche zwar wie die Mutanten des Typs IV optimal angereichert werden, diese Eigenschaft aber ihren Nachkommen nicht vererben (und damit natürlich auch kein Anreicherungsziel darstellen). Es wären folglich die früher unter anderem als Mosaiktiere gedeuteten Merkmalsträger des Mutontentyps IV, welche den tatsächlich abgelaufenen Anreicherungsprozess entscheidend geprägt hätten.

4. Dieser Sachverhalt läßt sich am deutlichsten aus den Gesamtanreicherungsfunktionen ablesen, die das Diagramm D wiedergibt. Naturgemäß erzielen hier nämlich diejenigen hypothetischen Populationen, welche den selektiv am meisten begünstigten Phänotyp (IV) ausschließlich als Erbmerkmal enthalten, - je nach der Zusammensetzung des Hintergrunds verschieden in mehr oder weniger vielen Schritten - stets denselben, und zwar den maximal möglichen Grenzwert der Gesamtanreicherung $\left(A_{ges.}(z)\right)$, der lediglich von der relativen Häufigkeit $\left(x_M(0)\right)$ der betreffenden Mutanten in der Ausgangs-

population abhängt (Ages.(z) = $1/x_M(0)$; dabei beträgt $x_{IV}(0)$ nach Tabelle 13 24,6/17353 = 0,00'4). Aufgrund des Modells D dagegen ergibt sich ein wesentlich niedrigerer (um einen Faktor von etwa 6 verminderter) Endbetrag. Es kann eben eine homogene, allein aus optimal angepaßten Mutanten zusammengesetzte Endpopulation nicht entstehen, weil die Elimination des unerwünschten Hintergrundes nur so lange fortschreitet, bis davon diejenigen Fliegen übrigbleiben, deren Verteilungsverhalten dem der gesuchten Mutanten gleicht. Durch die relative Häufigkeit $\left(x_p(0)\right)$ derartiger Tiere in der Ausgangspopulation wird festgelegt, welches Niveau der Gesamtanreicherung überhaupt zu erzielen ist (Ages.(z) = $1/x_p(0) + x_M(0)$, vergl. Erläuterung 4). Daß dieses in der Abbildung 7D so niedrig liegt, beruht also auf dem in Modell D angenommenen sehr ungünstigen Verhältnis von $x_p(0)$ zu $x_M(0)$ (= 126,1 zu 24,6). Ob das die Wirklichkeit trifft, wage ich allerdings nicht mit Entschiedenheit zu behaupten. -

Die oben gestellte Frage, wie man in der F_1 die Anreicherung von Mutanten mit veränderter UV-Blau-Reaktion vornehmen soll, um ein möglichst günstiges Verhältnis von Ausbeute und Arbeitsaufwand zu erwirken, bedarf also - wie ich habe deutlich machen wollen - differenzierender Klärung: für jeden Mutantentyp, den man zu erhalten wünscht, sind besondere Maßnahmen erforderlich; Voraussagen über den Ablauf von Anreicherungsprozessen bleiben unzuverlässig, solange die Zusammensetzung der F_1 nicht bekannt ist - insbesondere muß mit einer umso geringeren Effektivität mehrfach wiederholter Tests gerechnet werden, je häufiger die erwünschte Verhaltenseigenschaft nicht als Erbmerkmal, sondern als Phänotypus vorkommt. Hinzu tritt nun noch die Notwendigkeit einer weiteren Präzisierung.- Die beste Vorstellung von der anreichernden Wirksamkeit hintereinandergestaffelter Isolierungsversuche gibt sicherlich eine Gesamtanreicherungs- bzw. Häufigkeitsfunktion der Art, wie sie im Diagramm B der Abbildung 7 dargestellt ist. Danach scheint für den Mutantentyp IV eine drei- vielleicht auch viermalige Wiederholung des Tests bei gleichbleibend hohem

Erläuterung 4

Berechnung des Grenzwertes der Gesamtanreicherung in einer Population mit an die Selektion optimal angepaßten Mutanten (M) und diesen phänotypisch gleichenden, aber normalerbigen Individuen (P)

Der Grenzwert der Gesamtanreicherung für die Mutanten M beträgt, wie in der Erläuterung zur Tabelle 15 gezeigt,

$$\text{Ages.}(z) = \frac{x_M(z)}{x_M(0)} \text{ , wobei } z = n \to \infty .$$

Da angenommen wird, daß sich die Individuen M und P in gleichem Maße anreichern, gilt

$$\frac{H_M(0)}{H_P(0)} = \frac{H_M(z)}{H_P(z)}$$ (vergl. das Schema) und

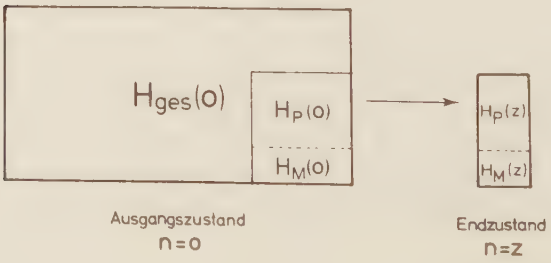
$$\frac{H_M(0)}{H_P(0) + H_M(0)} = \frac{H_M(z)}{H_P(z) + H_M(z)} \text{ . Folglich ist}$$

$$x_M(z) = \frac{H_M(z)}{H_P(z) + H_M(z)} = \frac{H_M(0)}{H_P(0) + H_M(0)} \text{ und deshalb}$$

$$\text{Ages.}(z) = \frac{x_M(z)}{x_M(0)} = \frac{H_M(0)}{H_P(0) + H_M(0)} \cdot \frac{\text{Hges.}(0)}{H_M(0)} = \frac{\text{Hges.}(0)}{H_P(0) + H_M(0)} =$$

$$= \frac{1}{x_P(0) + x_M(0)}$$

Setzt man die im Modell D angenommenen Werte ein, so ergibt sich $\text{Ages.}(z) = \frac{17353}{126{,}1 + 24{,}6} = 115{,}2$ (siehe Tab. 15, Spalte 13).



Selektionsdruck (Kurve a) am günstigsten zu sein. Doch sagen die gezeigten Kurven - denkt man genauer nach - über den zur Gewinnung von Mutanten notwendigen Versuchsaufwand nicht mehr, als daß dieser auf der Identifizierungsstufe des Verfahrers in dem Maße geringer wird, wie die Gesamtanreicherung steigt. Die Anzahl der erforderlichen Isolierungsversuche dagegen nimmt gleichzeitig, notwendigerweise, zu, weil mit wachsender Anreicherung der absolute Ertrag an Mutanten sinkt, man folglich, um eine unveränderte Ausbeute zu bekommen, die Menge der zu Beginn eingesetzten Fliegen erhöhen muß. Es nutzt daher nichts, sich - durch kräftiges Anreichern - in der F_2 möglichst vieler Tests zu entledigen; denn leicht könnte man sich gezwungen sehen, das so Gesparte statt dessen in der F_1 investieren zu müssen - und vielleicht noch einiges dazu.

Bei wieviel Anreicherungsschritten und welchem Selektionsmodus also ist der Gesamtaufwand an Isolierungs- und Identifizierungsversuchen - zur Gewinnung einer bestimmten Anzahl von Mutanten - minimal? Ich sehe mich genötigt, diese Frage, weil mir eine allgemeine Lösung nicht einfällt, mit Hilfe von Zahlenmodellen zu entscheiden, in denen der Ablauf des experimentellen Verfahrens, so eng wie möglich den tatsächlichen Gegebenheiten angepaßt, für verschiedene Anreicherungsbedingungen durchprobiert wird. Man findet die Einzelheiten der Rechenvorgänge, welche auf den Annahmen des Modells D und den Werten der Tabelle 15 aufbauen, in der Tabelle 16 (1-3); um die Ergebnisse kennenzulernen, genügt es, die Abbildung 8a zu Rate zu ziehen. Hier zeigt sich, daß für den extremen Mutantentyp IV eine Anreicherung unter hohem Selektionsdruck (a) - wie imgrunde vermutet - mit dem dritten Schritt am Minimum des Versuchsaufwands angelangt ist; doch führen - was ich nicht erwartet habe - bereits zwei Schritte zu fast demselben Resultat. Und es muß - für mich auch nicht selbstverständlich - eine nur mäßig strenge Auslese (b oder sogar c) der genannten starken keineswegs unterlegen sein, sondern kann unter Umständen die Effektivität des Verfahrens sogar

Erläuterungen zur Tabelle 16

1 Diese Zahl der zu Anfang eingesetzten Versuchstiere ist willkürlich gewählt; sie ändert sich im übrigen jeweils um den weiter unten eingeführten Faktor f.

2 Gemäß der Definition in Erläuterung 3 ist Sges. der Anteil der aus der Gesamtheit der Versuchstiere selektierten Fliegen.

3 absolute Häufigkeit der selektierten Tiere

4 Beim Übergang vom ersten zum zweiten Schritt rechne ich mit einem Verlust von 9%, vom zweiten zum dritten mit 14% und vom dritten zum vierten schließlich mit 20% (vergl. Tab. 4)

5 Anzahl (A) der in der F_2 zu prüfenden Stämme (Verlust nach Tabelle 5)

6 absolute Häufigkeit (H_{IV}) der unter A Stämmen zu erwartenden Mutanten

7 Korrekturfaktor (f) zur Normierung von H_{IV} auf den Wert 11,34. Dieser entspricht derjenigen Zahl an Mutanten, welche man in einem Verfahren ohne Anreicherung in der F_2 identifizieren würde. - Der Faktor f ist die entscheidende Rechengröße des Zahlenmodells. f gibt an, um welchen Faktor man das zu Beginn eingesetzte Versuchstiervolumen verändern muß, damit die durch die Anreicherung bedingte (absolute) Einbuße von Mutanten ausgeglichen wird, die Ausbeute also konstant bleibt. Unter der Einwirkung von f steigt die Zahl der Isolierungsversuche mit wachsender Gesamtanreicherung zunehmend, während sich die Abnahme der Identifizierungsversuche verlangsamt. Die Rechenmodelle sollen dazu dienen, diejenigen Anreicherungsbedingungen ausfindig zu machen, bei denen die Zahl der erforderlichen Identifizierungsversuche bereits stark abgenommen hat, der zugehörige Umfang der Isolierungsversuche aber noch nicht übermäßig angewachsen ist, so daß die Anzahl der insgesamt durchzuführenden Tests ein Minimum darstellt.

8 Anzahl A(korr.) der in der F_2 zu prüfenden Stamme, für die man eine Mutantenhäufigkeit von $H_{IV} = 11,34$ erwartet

9 siehe Abbildung 7B

10 Anzahl der Versuche (Spalte 4) mal f

11 Es wird also angenommen, daß ein einzelner Versuch bereits die Identifizierung ermöglicht, was für die Mutanten des Reaktionstyps IV ja auch zutrifft.

Tabelle 16

Zahlenmodelle zur Abschätzung des Versuchsaufwands bei der Isolierung und Identifizierung von Mutanten des Typs IV
Es wird das Modell D der Tabelle 13 zugrunde gelegt

1) Anreicherung bei hohem Selektionsdruck (Auslese aus den Röhren IIIb und 4b)

Stufen des Verfahrens	absol. Gesamthäufigkeit H der Versuchstiere	Zahl der Tiere pro Versuch	Zahl der Versuche	S(ges.) 2	H·S(ges.) 3	H·S(ges.) minus Verlust 4	Zahl der notwendigen Versuche in Abhängigkeit von der Zahl der Anreicherungsschritte n bzw. der zugehörigen erwarteten Mutantenhäufigkeit $x_{IV}\cdot 100$ 9				
							n=0 $x_{IV}\cdot100=0,142\%$	n=1 $x_{IV}\cdot100=1,14\%$	n=2 $x_{IV}\cdot100=5,02\%$	n=3 $x_{IV}\cdot100=10,58\%$	n=4 $x_{IV}\cdot100=13,89\%$
Schritte I	10000 1	174	57,1	0,0928	928,2	844,7		57,1·1,34=76,5	57,1·1,98=113,1	57,1·3,08=175,9	57,1·5,16=294,6
der Iso- II	844,7	89	9,5	0,1692	143,0	122,9			9,5·1,98= 18,8	9,5·3,08= 29,3	9,5·5,16= 49,0
lierungs-III	122,9	13	9,5	0,354	43,48	34,78		10		9,5·3,08= 29,3	9,5·5,16= 49,0
stufe IV	34,78	2·3,7	4,7	0,568	19,77						4,7·5,16= 24,3
Identifizierungsstufe mit je 1 Versuch pro Stamm 11	A=H·S(ges.) - 20% Verlust 5 $H_{IV}=A\cdot x_{IV}$ 6 f=11,34/H_{IV} 7 A(korr.)=A·f=11,34/x_{IV} 8						8000 11,34 1 8000	742,6 8,46 1,14 995,6	114,4 5,74 1,98 225,9	34,78 3,68 3,08 107,1	16,81 2,20 5,16 81,7
Gesamtzahl der zur Gewinnung von 11,34 Mutanten notwendigen Versuche							8000	1072,1	357,8	341,6	498,6

2) Anreicherung bei geringerem Selektionsdruck (Auslese aus IIb, IIIb und 4b)

Stufen des Verfahrens	Gesamthäufigkeit H	Tiere pro Versuch	Zahl der Versuche	S(ges.)	H·S(ges.)	H·S(ges.) minus Verlust	n=0 $x_{IV}\cdot100=0,142\%$	n=1 $x_{IV}\cdot100=0,64\%$	n=2 $x_{IV}\cdot100=2,16\%$	n=3 $x_{IV}\cdot100=5,22\%$	n=4 $x_{IV}\cdot100=8,90\%$
Schritte I	10000	175	57,1	0,1994	1994	1814		57,1·1,11=63,4	57,1·1,355=77,4	57,1·1,75=99,9	57,1·2,43=138,8
der Iso- II	1814	101	18,0	0,2666	483,7	416,0			18,0·1,355=24,4	18,0·1,75= 31,5	18,0·2,43= 43,7
lierungs-III	416,0	23	18,0	0,3730	155,2	124,15				18,0·1,75=31,5	18,0·2,43= 43,7
stufe IV	124,15	2·7,0	9,0	0,5282	65,57						9,0·2,43= 21,9
Identifizierungsstufe mit je 1 Versuch pro Stamm	A=H·S(ges.) - 20% Verlust $H_{IV}=A\cdot x_{IV}$ f=11,34/H_{IV} A(korr.)=A·f						8000 11,34 1 8000	1595 10,21 1,110 1770,9	387,0 8,37 1,355 524,3	124,15 6,48 1,75 217,3	52,46 4,67 2,43 127,4
Gesamtzahl der zur Gewinnung von 11,34 Mutanten notwendigen Versuche							8000	1834,3	626,1	380,2	375,5

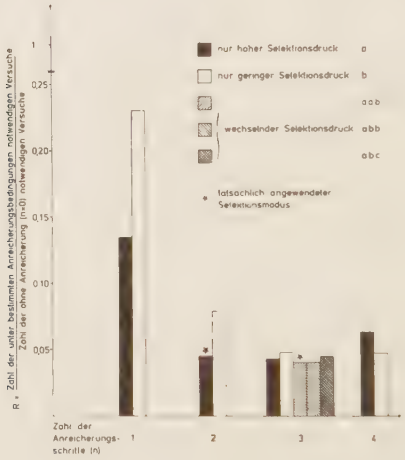
3) Anreicherung mit wechselndem, teils hohem (a), teils geringerem (b) oder geringem (c) Selektionsdruck (c=Auslese aus I, IIb, IIIb und 4b)

Stufen des Verfahrens	Art der Selektion	Gesamthäufigkeit H	Tiere pro Versuch	Zahl der Versuche	S(ges.)	H·S(ges.)	H·S(ges.) minus Verlust	Zahl der notwendigen Versuche in Abhängigkeit von der Art der Selektion (n=3)		
								aab $x_{IV}\cdot100=8,78\%$	abb $x_{IV}\cdot100=6,91\%$	abc $x_{IV}\cdot100=5,54\%$
Schritte I	a	10000	175	57,1	0,0928	928,2	844,7	57,1·2,55=145,6	57,1·2,11=120,5	57,1·2,00=114,2
der Iso- II	a a	844,7	89	9,5	0,1692	143,0	122,9	9,5·2,55= 24,2		
lierungs-	a b	844,7	89	9,5	0,3075	259,7	223,4		9,5·2,11= 20,05	9,5·2,00= 19,0
stufe III	a a b	122,9	13	9,5	0,5148	63,28		9,5·2,55= 24,2		
	a b b	223,4	24	9,5	0,4348	97,13			9,5·2,11= 20,05	
	a b c	223,4	24	9,5	0,5731	128,02				9,5·2,00= 19,0
Identifizierungsstufe mit je 1 Versuch pro Stamm	A=H·S(ges.) - 20% Verlust $H_{IV}=A\cdot x_{IV}$ f=11,34/H_{IV} A(korr.)=A·f							50,63 4,44 2,55 129,2	77,71 5,37 2,11 164,2	102,4 5,67 2,00 204,7
Gesamtzahl der zur Gewinnung von 11,34 Mutanten notwendigen Versuche								323,2	324,8	356,9

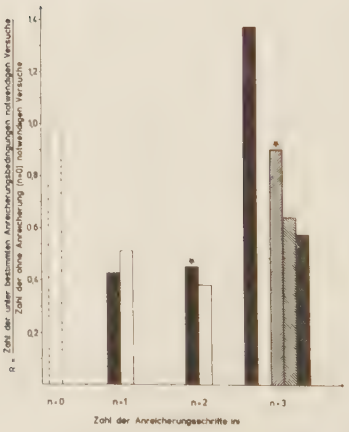
Abbildung 8a und b

Relative Anzahl R der für einen bestimmten Ertrag an Mutanten des Typs IV (a) bzw. des Typs $IIIa_1$ (b) insgesamt notwendigen Phototaxisversuche in Abhängigkeit von den Anreicherungsbedingungen, d.h. der Zahl der Schritte (n) und dem Selektionsmodus (a, b oder c)

a



b



steigern. Am günstigsten scheint ein Selektionsmodus zu sein, bei dem eine starke Auslese in den beiden ersten Schritten von geringerer im letzten abgelöst wird (aab; doch ist die Kombination abb kaum weniger vorteilhaft). Das in dieser Arbeit tatsächlich - mehr intuitiv - geübte Vorgehen (hauptsächlich Selektion nach dem Schema aab und aa) stellt sich damit, überraschenderweise, als gar nicht so nachteilig heraus wie schon befürchtet. Im übrigen hat natürlich die Anwendung von nur zwei Anreicherungsschritten den Vorzug, die Chancen der Mutanten mit geringeren Veränderungen des Verteilungsverhaltens wesentlich zu erhöhen (Abb. 8b). Denen kann allerdings, wie das Diagramm B der Abbildung 7 sehr deutlich macht, letzten Endes nur durch eine völlig andere, gegen die extrem abnormen Mutantentypen gerichtete Anreicherungsstrategie geholfen werden. Ich möchte darauf jetzt nicht weiter eingehen, obwohl die voranstehenden Ausführungen das theoretische Material zur Lösung der hier anstehenden Fragen geliefert haben sollte.

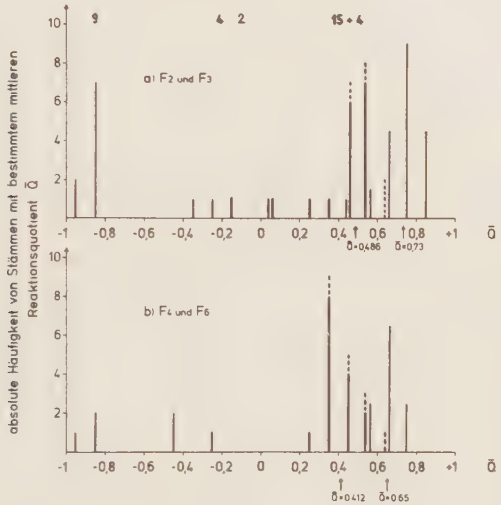
Die Erörterungen dieses Abschnitts lassen erkennen, daß einer Anreicherung von Mutanten engere Grenzen gesetzt zu sein scheinen als - jedenfalls von mir - erwartet. Vielleicht liegt das an der vorgegebenen Populationsstruktur der unter dem Einfluß von EMS stehenden ersten Nachkommenschaft, nicht eigentlich aber an mangelnder Leistungsfähigkeit der zur Isolierung abnormer Individuen verwendeten Methode. Wenn auch die anreichernde Wirksamkeit des einzelnen Tests nicht groß ist (hier stehen einer Verbesserung gewisse technische Schwierigkeiten entgegen), so führt doch dessen Wiederholung - zwar etwas umständlich, aber ohne schwerwiegende Verluste ausführbar - praktisch bis in die Nähe des maximal erreichbaren Effekts. Durch eine flexible, die Zahl der Isolierungsschritte den Gegebenheiten anpassende und den Selektionsdruck gezielt variierende Anwendung solcher Testwiederholungen ist es sogar möglich, dem offensichtlichen Nachteil des Verfahrens auch vorteilhafte Seiten abzugewinnen.

In einer anderen Hinsicht muß die Frage nach der Leistungsfähigkeit des von mir verwendeten Verfahrens zur Gewinnung von Phototaxismutanten allerdings noch genauer untersucht werden: ob es sich nämlich gegenüber den apparativ einfacheren Methoden von Benzer und Pak dadurch behaupten kann, daß - wie es ja an sich scheint - wirklich ein neuer Typ von Mutanten auffindbar wird. Darüber werde ich im zweiten Teil der Arbeit noch einiges berichten.

c) Ich möchte die Diskussion des ersten Teils der Arbeit mit einer zusammenfassenden, die Ergebnisse der beiden voranstehenden Abschnitte verarbeitenden Gegenüberstellung und Beurteilung aller als phototaktisch abnorm klassifizierten Stämme beenden. Dabei mag die Abbildung 9 von Nutzen sein, in welcher die betreffenden Stämme in Form eines Häufigkeitsdiagramms nach der Größe ihres mittleren Reaktionsquotienten ($\bar{Q}$) geordnet werden. Der Sinn der Darstellung, die im übrigen nur die Werte und Einteilungsprinzipien der Tabelle 9 übernimmt, liegt vor allem darin, die Häufigkeitsverhältnisse anschaulich zu machen, welche zwischen den Vertretern der verschiedenen Verhaltenstypen bestehen (Diagramm a). Was läßt sich daraus schließen, daß bestimmte Typen zahlreicher vorkommen als andere?
Natürlich muß diese Frage vor dem Hintergrund der Versuchs-, besonders der Anreicherungsbedingungen erörtert werden, die - wie sich deutlich gezeigt hat - extrem veränderten Mutanten eine sehr viel größere Chance geben, entdeckt zu werden, als vom Wildtyp weniger verschiedenen. So ist ohne weiteres verständlich, weshalb mehr Stämme vom Typ IV/IV' gefunden wurden als solche des Typenkomplexes III. Allerdings sind letztere durchaus nicht so wesentlich seltener, als wie man aufgrund des Diagramms B der Abbildung 7 eigentlich erwartet hätte. Das führt zu einer zweiten, zusätzlichen Erklärungsmöglichkeit der diskutierten Häufigkeitsverhältnisse: die Mutanten eines bestimmten Phänotyps dürften umso zahlreicher vorzufinden sein, je mehr Gene es gibt, welche die Entstehung des betreffenden abnormen Merk-

Abbildung 9

Häufigkeitsverteilung der mittleren Reaktionsquotienten ($\bar{Q}$) sämtlicher als phototaktisch abnorm klassifizierter Stämme und deren Einteilung in Gruppen bzw. Typen. Werte nach Tabelle 9



Die verwendeten Farben bezeichnen folgende Gruppen (nach Tab. 9) bzw. Typen (nach Tab. 12a):

schwarz: Wildtyp (Häufigkeitsverteilung des Reaktionsquotienten Q, Ordinatenwerte um den Faktor 2 verkleinert)

rot: Stämme der Gruppe 5 bzw. des Typs I und II; solche Stämme, bei denen nach Tab. 9 ein Unterschied zum Wildtyp nicht gesichert ist, sind gestrichelt.

gelb: Gruppe 2 } Typenkomplex III

grün: Gruppe 6 }

blau: Gruppe 7, Typenkomplex IV/IV'

Über dem Diagramm a ist die Gesamtzahl der jeweils gefundenen Stämme angegeben. Unter den Bedingungen des Diagramms b, also in F_4 und F_6 wurden nur aus der Gruppe 5 sämtliche Stämme getestet.

mals bewirken können. Deshalb liegt es nahe anzunehmen, daß die dem Typ III zugeordnete Gesamtheit von Verhaltenseigenschaften der Kontrolle von mehr Genen untersteht - Genen wenigstens, deren Fehlwirkungen mit der von mir angewendeten Methode erfaßbar sind -, als dies beim Typ IV/IV' der Fall ist. Tatsächlich findet man hierfür eine vorerst allerdings noch recht äußerliche Bestätigung: während die meisten der ganz extremen Mutanten, wie früher erwähnt, einander sehr ähnlich sind, einige von ihnen also durch Allele des gleichen Gens bedingt sein mögen, erscheinen die Stämme des Typs III - ohnehin in zwei gänzlich verschiedene Gruppen zerfallend - weitgehend heterogen. - Grundsätzlich betrachtet könnten allerdings sämtliche Stämme mit Q-Werten um oder kleiner als Null, statt ihre Merkmalsvielfalt der Mutation verschiedener Gene zu verdanken, auch auf Allele eines einzigen Gens zurückgehen. Die Mutanten des Typs III wären dann sozusagen als die Träger "schwächerer" Allele anzusprechen. Sie könnten freilich auch insofern die häufigeren sein (siehe S. 91). Die oben genannte Erklärung mag also im Prinzip sowohl auf dem Niveau der Gene als auch dem der Allele gelten. Wenn aber beide Gesichtspunkte berechtigt sind (vergl. die später noch erörterte Abbildung 10) wird man sich notgedrungen auf die untere Ebene (die der Allele) beziehen müssen: die relativen Häufigkeiten der gefundenen Mutanten spiegeln demnach nicht einfach die Zahl der relevanten Gene wieder, sondern das Verhältnis der Gesamthäufigkeiten aller Mutationsorte, die potentiell jeweils einen bestimmten abnormen Phänotyp hervorbringen.

Während man kaum zögern wird, die bisher besprochenen Stämme der Gruppen 2, 6 und 7 wirklich als Mutanten anzusehen, nämlich als reinerbige Träger eines abnormen Merkmals, das auf der Veränderung eines einzelnen Gens beruht, waren in dieser Hinsicht bei den Stämmen der Gruppe 5 schon früher Zweifel aufgetaucht. Auch jetzt gibt es wieder Schwierigkeiten. Kann es sich hier trotz der erstaunlich großen Anzahl der gefundenen Fälle tatsächlich um Mutanten im soeben definierten Sinne handeln; wäre die Zahl der dann zu postu-

lierenden genetischen Elemente nicht unglaubwürdig hoch? Zur Beantwortung solcher Fragen genügt eine qualitative Erörterung der Zusammenhänge nicht mehr. Um aber eine quantitative Abschätzung zu ermöglichen, gehe ich zunächst von einer einfacheren, vorbereitenden Problemstellung aus; sie lautet: wenn alle Stämme der Gruppe 5 tatsächlich auf Mutanten zurückgehen würden, wie viele solcher Individuen müßten dann in der unselektionierten F_1 vorhanden gewesen sein? Leider geben nun die Zahlen des Modells D hierüber keine eigentlich angemessene Auskunft. Denn diese sind ja allein aus den Ergebnissen der zweiten Nachkommenschaft abgeleitet worden, welche zwar mit der Merkmalsstruktur der ersten noch am engsten verbunden sind, aber eine Identifizierung genetisch stabiler Linien und damit einen Rückschluß speziell auf Mutanten nicht erlauben. Um ein Häufigkeitsmodell der F_1 zu entwickeln, das der rechnerischen Erfassung von Mutanten dient, muß man also wenigstens von den Ergebnissen der zweiten und dritten Nachkommenschaft ausgehen, und zwar unter Beschränkung auf solche Stämme, denen bestimmte Veränderungen des phototaktischen Verhaltens fest zugeschrieben werden können. Eine entsprechende Neudefinition von "Mutantentypen" gibt die Tabelle 17a. In der Tabelle 17b werden dann die für eine Abschätzung relevanten experimentellen Ergebnisse - gemäß den schon früher erläuterten Prinzipien, wenn auch jetzt in etwas anderer Form - rechnerisch verarbeitet, d.h. es wird versucht, die für jeden Mutantentyp zu fordernde Gesamtanreicherung im zwei- bis dreistufigen Isolierungsverfahren (Spalte 1) mit der jeweils gefundenen Häufigkeit abnormer Stämme (Spalte 4) numerisch in Einklang zu bringen. Als Korrekturglied zwischen beiden Größen ergeben sich dabei zwangsläufig die ungefähren Häufigkeitsverhältnisse der einzelnen Typen in der unselektionierten F_1 (Spalte 5); denn sind z.B. von einem bestimmten Mutantentyp, der schlechte Anreicherungschancen besitzt, trotzdem relativ viele Stämme identifiziert worden, so kann daraus auf eine relativ große Anzahl entsprechender Individuen in der Ausgangspopulation geschlossen werden (vergl.

Tabelle 17a

Festlegung und Charakterisierung von Mutantentypen in der F_1, F_2 und F_3

Mutantentyp (Gruppe nach Tabelle 9)	Klassengrenzen von $\bar{Q}$	$\hat{Q}$ Klassenmittel von $\bar{Q}$	mittleres Verteilungsergebnis in % 4a/IIIa	IIa	I	IIb	IIIb/4b	Haufigkeit der betreffenden Stamme
I_1	0,57 - 0,63	0,6005	53,0	20,8	7,8	8,6	9,8	4
I_2 (Gr.5)	0,49 - 0,535	0,511	47,6	21,7	8,2	10,3	12,1	7
II_1	0,4 - 0,465	0,428	43,4	21,0	9,9	13,1	12,7	7
II_2	0,28 - 0,375	0,327	35,0	21,4	15,0	14,1	14,6	2
III_1'(Gr.3)	um 0	-0,035	5,24	19,8	48,1	16,8	10,0	2
III_1	-	0,084	31,6	17,8	8,8	18,4	23,4	1
III_2 (Gr.6)	-	-0,22	19,6	14,9	11,7	21,8	32,1	1
III_3	-	-0,442	7,1	14,6	22,2	20,2	35,9	1
IV (Gr.7)	-1 bis -0,75	-0,898	0,72	4,1	5,14	15,5	74,6	8
IV'	-	-0,917	1,25	1,75	19,5	23,2	54,4	1

Bei den Berechnungen sind samtliche Stamme der Gruppen 3, 5, 6 und 7 berucksichtigt worden, diejenigen der Gruppe 5 allerdings nur im Sinne einer noch zu prufenden Hypothese. $\bar{Q}$ ist der mittlere Reaktionsquotient aller in der 2. und 3. Nachkommenschaft mit einem bestimmten Stamm durchgeführten Versuche. Wo ein Typ nur durch einen einzigen Stamm vertreten ist, entfallen naturlich die Angaben der Spalte 2. Im ubrigen vergleiche man mit der Tab. 12a. Wie dort wurde angenommen, daß die Verteilungswahrscheinlichkeiten durch Selektion nicht verandert werden, also für alle Anreicherungsschritte gleich sind, eine Vereinfachung, die sich jetzt wegen der praziseren Fassung der meisten Typen vielleicht etwas besser rechtfertigen laßt. Auf jeden Fall ist die Anzahl der in der F_1 zu fordernden Mutanten großer, wenn "selektionsneutrale" Werte Verwendung finden; da sich dies auf die spater gefuhrte Argumentation eher ungunstig auswirkt, glaube ich es schon deshalb dabei belassen zu konnen. - Wahrend die Typen III_1' bis IV' als Charakterisierungen deutlich voneinander verschiedener Mutanten zu verstehen sind, ist die Unterteilung innerhalb der Gruppe 5 ziemlich willkürlich.

Anmerkungen zur Tabelle 17b

1 Berechnungen aufgrund der Werte von Tabelle 4 und Tabelle 7a unter Anwendung der auf Seite 75c erläuterten Formel 5.

2 Der Quotient $\bar{A}ges.(M)/\bar{A}ges.(IV)$ gibt an, um welchen Faktor die mittlere Gesamtanreicherung der einzelnen Mutantentypen (M) verschieden sein sollte von derjenigen des am meisten begünstigten Typs IV. Würde man annehmen, daß in der unselektionierten F_1 alle Typen gleich häufig vertreten sind, dann wäre $\bar{A}ges.(M)/\bar{A}ges.(IV)$ zahlenmäßig identisch mit der relativen erwarteten Mutantenhäufigkeit $\mathcal{K}(M)/\mathcal{K}(IV)$ nach Anreicherung, gäbe also zugleich Aufschluß darüber, mit wieviel Mutanten jeweils - im Verhältnis zu denen des Typs IV - nach Ablauf der Isolierungsprozedur (in F_1 und F_2) gerechnet werden könnte.

3 z(IV) ist die Anzahl der tatsächlich gefundenen Mutanten des Typs IV (vergl. die 4. Spalte).
Der Gesamtausdruck $z(IV)\ \bar{A}ges.(M)/\bar{A}ges.(IV)$ schätzt auf der Grundlage der Anreicherungsdaten und bezogen auf den Wert z(IV) = 8 die absolute Häufigkeit $\mathcal{K}(M)$ der für jeden Typ erwarteten abnormen Stämme; diese gilt allerdings - gemäß Anmerkung 2 - nur unter der Voraussetzung, daß in der Ausgangspopulation der F_1 alle Typen gleich häufig vorkommen.

4 Der Quotient $z(M)/\mathcal{K}(M)$ ist der entscheidende Ausdruck der Tabelle. Er gibt an, um welchen Faktor die tatsächlich gefundene Mutantenzahl [z(M)] jedes einzelnen Typs vom - aus den Anreicherungsdaten hergeleiteten - Erwartungswert $\mathcal{K}(M)$ abweicht. Um eben diesen Faktor müssen die "Mutanten" der betreffenden Typen in der unselektionierten F_1 zahlreicher gewesen sein als diejenigen des Typs IV, damit die Anreicherungswerte der Spalte 1 und die Stammhäufigkeiten der Spalte 5 miteinander in Einklang stehen. - Der Rückschluß auf die relativen Mutantenhäufigkeiten der F_1 gilt streng genommen allerdings nur dann, wenn die als abnorm identifizierten Stämme einerseits und deren jeweilige Vorfahren in der ersten Nachkommenschaft andererseits stets durch dieselbe Reaktionstendenz charakterisiert sind, es also einen genetisch oder modifikatorisch bedingten Wechsel des Reaktionstyps, wie er früher im Modell D allgemein angenommen wurde, bei den postulierten Mutanten nicht gibt. Das dürfte zwar - von kleinen Verschiebungen zwischen ähnlichen Typen abgesehen - im wesentlichen der Fall sein, muß aber keineswegs. Aus diesem Grund sind die Zahlenangaben der Spalte 5 eher als Maximalwerte aufzufassen. Denn der Anreicherungsprozess würde ja solche "Wechselfälle" begünstigen, bei denen man es in der F_1 mit höherer Blautendenz zu tun hätte als in den dann folgenden Generationen, und daher könnten schwächer abnorme Stämme häufiger gefunden werden als der Anreicherungschance ihres Mutantentyps entspricht.

* Anzahl der unter den unzureichend geprüften Stämmen zusätzlich noch vermuteten Vertretern des Typs I (vergl. das Histogramm zur Tabelle 5)

Tabelle 17b

Abschätzung der Häufigkeitsverhältnisse von Mutanten in der unselektionierten F_1

Mutantentyp (M)	1 mittlere Gesamtanreicherung $\bar{A}ges.(M)$ in samtlichen Isolierungsversuchen n=2 bzw. 3	2 relative mittlere Gesamtanreicherung $\bar{A}ges.(M)/\bar{A}ges.(IV)$	3 $\frac{\bar{A}ges.(M)}{\bar{A}ges.(IV)} \; z(IV) = \mathcal{K}(M)$	tatsächlich gefundene Anzahl abnormer Stamme z(M)	4 $\frac{z(M)}{\mathcal{K}(M)}$	
IV	46,0	1	8	8	1	
IV'	22,6	0,491	3,93	1	0,254	
III_3	8,23	0,179	1,43	1	0,699	
III_2	6,23	0,135	1,08	1 (3)	0,923 (3,6)	
III_1	2,90	0,063	0,504	1	1,99	
III_1'	0,505	0,011	0,088	2	22,78	
II_2	0,979	0,021	0,170	2	11,75	
II_1	0,707	0,015	0,123	7 (23)	56,97 (234,8)	
I_2	0,613	0,013	0,107	7 + 1*	65,65/75,02	
I_1	0,379	0,008	0,066	4 + 2*	60,72/91,08	

die Anmerkung 4 der Tabelle 17b). - Ich will nun nicht behaupten, die Werte der Spalte 5 müßten zugleich das Verhältnis wiederspiegeln, in dem die Häufigkeiten der jeweils einen bestimmten Phänotyp kontrollierenden verschiedenen möglichen Erbänderungen - soweit durch Mutanten erfaßbar - zueinander stehen. Daß die abnormen Typen der Tabelle 17a schon vor der Anreicherung in sehr unterschiedlicher Frequenz vertreten sind, könnte durchaus noch andere Gründe haben als den einer verschieden großen Vielfalt im genetischen Ursachengefüge der betrachteten Merkmalskomplexe.[1] Immerhin aber erscheint mir keine andere Erklärung von so großem Gewicht, und ich möchte sie daher trotzdem zur Grundlage einer vorsichtigen Interpretation der in Tabelle 17b berechneten Häufigkeitsverhältnisse machen. Vorsicht gebietet im übrigen auch die sicherlich erhebliche statistische Unsicherheit der angegebenen Werte.

Ich komme damit zu der oben gestellten Frage zurück, ob die beachtliche Anzahl der zur Gruppe 5 gehörenden Stämme mit der Annahme vereinbar ist, die Individuen aller dieser Stämme könnten als Mutanten angesprochen werden. In der Tat wäre im Falle einer positiven Antwort die zu fordernde Häufigkeit voneinander verschiedener Mutationen, durch welche die Entstehung der Phänotypen I und II möglich sein müßte, um einen auf den ersten Blick unrealistisch hohen Betrag (um das etwa 235-fache) größer als für den Extremtyp IV. Folgende Argumente aber nehmen diesem Unterschied zumindest einen Teil seiner Unglaubwürdigkeit:

1. Die in der Tabelle 17, Spalte 5 aufgeführten Verhältnisse sind aus mehreren bereits genannten Gründen ohnehin als Maximalwerte zu betrachten (siehe z.B. die Anmerkung 4 der Tabelle 17b, aber auch die unten stehende Fußnote).
2. Auch wenn die berechneten Werte das Potential der für die

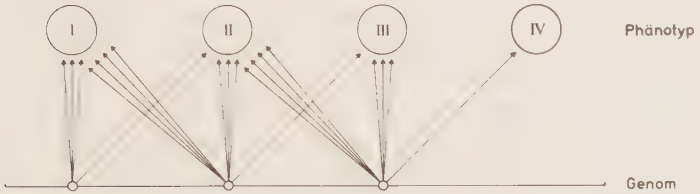
[1] Z.B. würde es nicht überraschen, wenn die Mutanten mit den schwächeren Anomalien vitaler wären als die stärker abnormen und sich deshalb besser ansammeln könnten, ja sie mögen bereits vor der EMS-Behandlung, also in der Wildtyppopulation vorhanden gewesen sein.

Entstehung jedes Mutantentyps relevanten Mutationsorte zuverlässig schätzen würden, lieferten sie trotzdem nur ein in unbekanntem Maße verzerrtes Bild der hier letztlich interessierenden Häufigkeitsverhältnisse jeweils beteiligter Gene. Wie früher schon angedeutet, könnten ja im Prinzip zwei oder mehr Typen durch verschiedene Allele desselben Gens bedingt werden, sich also in ein und derselben Komplementationsgruppe Mutanten vorfinden, die vom Wildtyp stärker abweichen, und solche, die nur geringe Veränderungen aufweisen. Wenn nun letztere in der Überzahl wären (d.h. das zugrunde liegende Gen häufiger die Entstehung "schwacher" Mutanten veranlassen würde als die "extremer"), was den allgemein bekannten Befunden der Molekulargenetik entspräche, dann trüge das zu einer relativ hohen genetischen Vielfalt der vom Normalen weniger verschiedenen Phänotypen bei, die nicht auf einer entsprechend großen Anzahl beteiligter Gene beruht (siehe Abbildung 10). Ähnliches würde gelten, wenn solche Gene, die ausschließlich stärker abnorme Mutantentypen hervorbrächten, nur verhältnismäßig wenige relevante Allele aufzuweisen hätten. In welchem Umfang diese Möglichkeiten verwirklicht sind, läßt sich allerdings nicht angeben. Dennoch rechne ich damit, daß die diskutierten Häufigkeitsverhältnisse der Tabelle 17 den für die Typen I und II verantwortlichen Genbestand aus den genannten Gründen - vielleicht sogar erheblich - überschätzen. Im übrigen vermindert sich natürlich die Gesamtheit der zu postulierenden Erbfaktoren in dem Maße, wie Mutanten verschiedener Typen derselben Komplementationsgruppe angehören.

3. Die nach wie vor unabweisbare Forderung, daß die Stämme der Gruppe 5 (falls es sich hier tatsächlich um Mutanten handelt) ihre Entstehung verhältnismäßig vielen Genen verdanken müssen, ist grundsätzlich akzeptabel. Bereits die schon mehrfach genannten, sehr umfangreichen Bemühungen von Benzer und Pak zur Gewinnung reiner Phototaxismutanten haben spezifische Gene, die starke Veränderungen hervorrufen, nur in recht begrenzter Anzahl zu Tage gefördert. Das ent-

Abbildung 10

Schematische Darstellung einer möglichen Beziehung zwischen der Häufigkeit bestimmter abnormer Phänotypen und der Vielfalt der jeweils zugrunde liegenden genetischen Elemente



2	3	2	1 ★
7	8	4	1 ★★

★relative, auf Typ IV bezogene Häufigkeit der jeweils beteiligten Gene

★★relative, auf Typ IV bezogene Häufigkeit der jeweils beteiligten Mutationsorte = erwartete relative Häufigkeit der Phänotypen

Die eingezeichneten Elemente des Genoms symbolisieren Gene, welche so mutieren, daß der Träger eines veränderten Gens einen der vier abnormen Phänotypen aufweist. Diese Beziehung wird durch Pfeile angedeutet. Alle Gene sollen zu Allelen mutieren können, die jeweils verschiedene Phänotypen bedingen. Die Mutationsrate aller Allele wird als gleich angenommen. Unter dieser Voraussetzung hängt die zu erwartende Häufigkeit eines bestimmten Phänotyps davon ab, wie viele Gene mit wie vielen Allelen zu seiner Entstehung führen. Es soll anschaulich gemacht werden, daß eine für einen bestimmten Phänotyp erwartete hohe Häufigkeit an Mutanten, die auf einer hohen genetischen Vielfalt beruht, nicht notwendigerweise mit einer entsprechend großen Anzahl beteiligter Gene verbunden sein muß.

spricht durchaus der Erwartung, und Ähnliches wird auch für diese Arbeit gelten, sollte sie nun qualitativ andersartige Mutanten hervorbringen oder nicht. Dagegen liegt es nahe, die Häufigkeit von Genen mit kleineren, spezifischen oder unspezifischen Wirkungen auf das Verteilungsverhalten im Phototaxisapparat in einer höheren Größenordnung zu vermuten.[1] Ich kenne zwar keine speziellen Untersuchungen dieser Zusammenhänge, doch weiß man jedenfalls, wie weit verbreitet pleiotrope Nebeneffekte gerade im Bereich des Verhaltens sind. Zudem mag die Empfindlichkeit des Phototaxistests ausreichen, um auch den verschwindend geringen Einfluß solcher genetischer Elemente zu erfassen, die in Ermangelung hinreichend feiner Untersuchungsmethoden einfach den sogenannten "Polygenen" zugerechnet würden.

4. Von Gewicht ist letztlich aber nur ein Argument, welches zusammenfassend darlegt, daß die zu fordernde Anzahl von Genen einen unglaubwürdig hohen Anteil am Gesamtgenom nicht notwendigerweise übersteigt. Dies kann freilich nur in der Form einer sehr groben, weitgehend spekulativen Abschätzung geschehen: Ich setze zunächst - damit Ergebnisse des zweiten Teils vorwegnehmend - die Häufigkeit derjenigen Erbfaktoren, welche den Mutantentyp IV bedingen, gleich 1. Die Phänotypen I_1 bis II_2 würden dann, damit das Auftreten von 23 Stämmen erklärlich wird, einer Anzahl von 235 "Mutationsorten" bedürfen, sämtliche Typen zusammen deren etwa 260 beanspruchen. Wenn man diesen Wert nun aufgrund von Argument 2 recht willkürlich, aber vielleicht nicht außerhalb jeder möglichen Realität um ein Viertel reduziert, die übrigbleibenden 195 Gene dem X-Chromosom zuweist (was im wesentlichen richtig sein dürfte) und dort eine - sehr unsicher geschätzte - Gesamtzahl von 4000 Genen zugrunde legt[2], so ergibt sich, daß ungefähr 5% der Erbfaktoren des X-Chromosoms das

[1] Man erinnere sich, daß die Veränderung des Verteilungsverhaltens bei den meisten Stämmen der Gruppe 5 nicht mit Sicherheit als spezifisch phototaktisch interpretiert werden konnte (siehe S.54 oben).

[2] siehe Fußnote nächste Seite

Verteilungsverhalten im Phototaxisapparat in nachweisbarem Ausmaß müßten beeinflussen können. Ist dieser Betrag, der sich ja im wesentlichen auf die genetischen Elemente der Phänotypen I und II bezieht, zu hoch? Ich glaube das eigentlich nicht. Imgrunde aber läßt sich die Frage, ob die Stämme der Gruppe 5 in einer Häufigkeit gefunden worden sind, welche es erlaubt, alle diese Stamme als Mutanten anzusehen, mangels wirklich zuverlässiger Befunde und vor allem wegen des Fehlens sicherer Beurteilungsgrundlagen letzten Endes wohl nicht entscheiden. Damit ist freilich zugleich eine positive Feststellung getroffen: es kann sich bei den diskutierten Stämmen eben durchaus um Mutanten handeln.

Dieser Ausgang der Erörterung verlangt nach einer Untersuchung möglicher Alternativen. Nur auf eine allerdings lohnt es sich, näher einzugehen: die Stämme der Gruppe 5 könnten von "Rekombinanten" abstammen, d.h. von Individuen, deren leicht abnormes Verhalten seine Ursache in der Wirkung eines polygenen Systems gehabt hätte, die auch ohne Anwendung des Mutagens in der F_1 vorhanden gewesen und dort lediglich aufgrund des Selektionsprozesses in größerer Zahl erfaßt worden wären. Eine solche Erklärung (früher schon in Erwägung gezogen) hat manches gegen sich. Die Auslese erfolgte ja nur in einer einzigen Generation und nur in einem, dem männlichen Geschlecht (Abb. 4); es ist fraglich, ob das zur Etablierung von Selektionsstämmen, die immerhin über sechs Generationen hinweg - (so lange wurden die Stämme geprüft) - stabil gewesen sein müßten (vergl. die Diagramme a und b der Abb. 9), bereits genügt. Außerdem haben die in der Tabelle 11 zusammengefaßten Ergebnisse der Rückkreuzungen mit dem Wildtyp gezeigt, daß die beobachteten Verhaltensanomalien im wesentlichen von genetischen Elementen des X-Chromosoms ab-

[2] Allgemein wird die Anzahl "essentieller", d.h. zum Überleben von Drosophila notwendiger X-chromosomaler Gene auf ziemlich genau 1000 geschätzt. Da aber die Häufigkeit der "nicht-essentiellen" Gene bisher nicht festgestellt werden konnte, bleibt jeder Gesamtwert spekulativ. Ich bin bei meiner Angabe von 4000 dem Rat von Herrn Dr. Korge gefolgt, der eine Zahl von 20000 Strukturgenen pro Drosophila-Genom für nicht zu hoch hält, zumal Prescott bereits bei dem Ciliaten Stylonychia einen Betrag dieser Größenordnung findet.

zuhängen scheinen, ein Befund, der ein polygenes System als Ursache zwar nicht ausschließt, aber doch unwahrscheinlicher macht. Schließlich würde natürlich für F_1-Rekombinanten das gleiche gelten, was oben für die entsprechenden Mutanten festgestellt worden ist: sie wären zwar dem Wildtyp gegenüber selektiv begünstigt, insgesamt aber deutlich im Nachteil (siehe Tabelle 17a, Spalte 1); auch sie müßten folglich in der F_1, zugleich jedoch ebenso im Kontrollstamm, sehr häufig gewesen sein, damit die verhältnismäßig große Zahl gefundener Stämme verständlich würde. Diese Häufigkeit beträgt, wenn man die Angaben der Tabellen 17a und b zugrunde legt, 35,5%.[1] Das ist zweifellos für den Kontrollstamm ein ziemlich hoher Anteil; der Rest des Wildtyps müßte in solchem Falle einen mittleren Reaktionsquotienten von etwa 0,86 aufweisen, um denjenigen von 0,49 (siehe Abb. 9a) der "Rekombinanten" zu dem tatsächlich bestimmten Wert von 0,73 (Tabelle 12a) zu ergänzen. Derartig große Unterschiede innerhalb der Versuchsgruppen der Kontrolle wären aber wohl doch aufgefallen. Eine genauere Prüfung der sicher nur vermeintlichen Homogenität des Kontrollstamms habe ich allerdings leider versäumt.

Alle genannten Gründe zusammengenommen lassen vermuten, daß die Stämme der Gruppe 5 ihre Anomalie im Verteilungsverhalten, zumindest in der überwiegenden Mehrheit, nicht der hier zuletzt erörterten Ursache verdanken. Wahrscheinlich

[1] Die Berechnung kann im Prinzip nach der in der Erläuterung 2 (S. 66c) angegebenen Formel erfolgen. Ein daraus abgeleiteter, zweckmäßigerer Ausdruck, welcher sich auf relative Häufigkeiten (F) bezieht und die Vielzahl der auftretenden, die Anreicherung bestimmenden Faktoren (gemäß Erläuterung 3) in der Größe der Gesamtanreicherung zusammenfaßt, lautet:

$$F_R(\%) = \frac{H_R}{Hges.} \cdot 100 = \frac{Z_R/Zges.}{\bar{A}ges.(R)} \cdot 100 \text{ , wobei } Zges. = 115 \text{ die Anzahl der insgesamt untersuchten Stämme ist und } Z_R \text{ die dem Reaktionstyp R zugewiesene. Die relative Häufigkeit, in welcher die Rekombinanten der Typen } I_1 \text{ bis } II_2 \text{ in der } F_1 \text{ zu erwarten wären, ergibt sich dann aus der Summe der für jeden Typ berechneten Einzelwerte. Dabei wird vorausgesetzt, daß die Reaktionstendenz der Fliegen in der ersten und zweiten Nachkommenschaft die gleiche ist.}$$

handelt es sich deshalb doch - trotz der oben diskutierten Unwägbarkeiten - hauptsächlich um EMS-induzierte Mutanten mit Veränderungen auf dem X-Chromosom. Daneben mag auch eine kleinere Anzahl von Stämmen vorkommen, die aufgrund anderer genetischer Wirkungen entstanden sind, z.B. nicht durch EMS bedingte, vielleicht schon im Wildtyp in kleinerer Anzahl vertretene X-chromosomale Mutanten, dominant autosomale Mutanten (vergl. die Diskussion im Abschnitt 3bγ), Stämme mit EMS-induzierten, komplexen genetischen Veränderungen und möglicherweise eben doch auch Rekombinanten der besprochenen Art. Experimente zur Untersuchung dieser Alternativen sind nicht durchgeführt worden.

Teil II: Versuche einer Charakterisierung von Mutanten mit veränderter UV-Blau-Reaktion

1) Vorbemerkungen

Nachdem ich im ersten Teil meiner Arbeit dargelegt habe, mit welchen Methoden und Ergebnissen nach Mutanten gesucht worden ist, von denen nur verlangt war, ihre phototaktische Reaktion im UV-gegen-Blau-Test sollte mehr dem blauen Lichtreiz zuneigen als beim Wildtyp, wird sich der zweite Teil mit der genaueren Charakterisierung der gefundenen Mutationsträger befassen. Das dabei verfolgte Ziel wurde bereits ganz zu Anfang der Arbeit genannt: man möchte die Eigenschaften der Mutanten, im Vergleich zu denen des Wildtyps, in geeigneten Experimenten so umfassend wie möglich analysieren, um auf diese Weise zu einer Klärung der dem normalen Verhalten zugrunde liegenden Strukturen und Funktionen beizutragen. Daran gemessen sind meine Untersuchungen nicht über ein Anfangsstadium hinausgekommen. Sie haben erst begonnen, sich an die Besonderheiten einzelner, ausgewähl-

ter Mutanten unter drei Gesichtspunkten, in genetischer, anatomischer und sinnesphysiologischer Hinsicht, heranzutasten. In der vorliegenden Arbeit beschränke ich mich sogar, notgedrungen, auf die ersten beiden der genannten Aspekte, wobei ich hoffe, damit wenigstens eine Abrundung der im Teil I dargestellten Ergebnisse zu erreichen. Demselben Zweck sollen auch einige mehr allgemeine Bemerkungen dienen, die ich am Schluß meiner Ausführungen zum sinnesphysiologischen Hintergrund der vorgestellten Methoden und Befunde machen möchte.

2) Versuche zur genetischen Charakterisierung

Das Ziel einer kreuzungsgenetischen Analyse von Mutanten liegt im allgemeinen darin festzustellen, an welchem Genort welchen Chromosoms eine neuentdeckte Mutation aufgetreten ist. Hierfür stehen bei Drosophila gut ausgearbeitete Techniken zur Verfügung, die allerdings mühsamer anzuwenden sind, wenn die Merkmale der untersuchten Mutanten nicht am einzelnen Individuum, sondern zuverlässig erst bei einer Gruppe von Tieren in Erscheinung treten. Deshalb habe ich auf Genkartierung zunächst verzichtet und mich damit begnügt, früher schon erhobene Befunde eines X-chromosomalen Erbgangs (Tabelle 10 und 11) durch weitere Ergebnisse zu bestätigen, vor allem aber zu ermitteln, auf wieviel Komplementationsgruppen (das sind Gruppen von Mutanten, die jeweils durch Allele desselben Gens verursacht werden) sich die gefundenen erbbedingt abnormen Stämme in welcher Weise verteilen. Dabei sind vorerst nur solche Stämme berücksichtigt worden, die sich aufgrund einer überwiegenden Blau-Tendenz im UV-Blau-Versuch hinreichend gut vom Wildtyp unterscheiden lassen, also diejenigen der Phänotypengruppen 6 und 7.
Die Frage, ob zwei oder mehr Mutanten auf Allele desselben Gens zurückgehen oder auf der Wirkung verschiedener ("nichtalleler") Gene beruhen, kann im sogenannten Komplementationstest geklärt werden. Das geschieht bei Drosophila im Prinzip auf folgende Weise: Man kreuzt die Fliegen zweier unabhängig voneinander gewonnener genetisch anomaler Stämme und prüft die - im Falle X-chromosomaler Vererbung weibli-

liche - erste Nachkommenschaft, deren Individuen, doppelt heterozygot, im väterlichen und mütterlichen Chromosomensatz je eine der beiden zu testenden Mutationen tragen müssen, auf ihren Phänotyp (Abb. 11). Dieser sollte normal sein, wenn der Erbdefekt der beiden Stämme sich rezessiv auswirkt und verschiedene Loci betrifft; denn die Normalfunktion der betroffenen Gene wäre ja durch je ein Wildtypallel in je einem Satz homologer Chromosomen, deren Leistungen einander ergänzen (komplementieren), garantiert. Zeigt die F_1 dagegen die Merkmale der Mutanten, dann können die Mutationen - sofern Dominanz ausgeschlossen ist - nur am gleichen Genort liegen, weil andernfalls eben Komplementation zum Wildtyp hätte eintreten müssen; statt dessen sorgen offensichtlich zwei Allele für die Fehlfunktion beider homologer Strukturen und damit für die Ausprägung des abnormen Phänotyps.

Ein Komplementationstest - die Prüfung also, ob in den zweifach heterozygoten Mutationsträgern der F_1 eine Ergänzung zur Wildtypfunktion erfolgt oder nicht - läßt sich für Erbdefekte des X-Chromosoms, mit denen ich zu rechnen habe, natürlich erst durchführen, nachdem die früher verwendeten attached-X-Stämme (vergl. Abb. 4) in solche umgewandelt worden sind, bei denen auch die Weibchen das bisher nur von den Männchen getragene, vermutlich mutierte X-Chromosom besitzen. Zu diesem Zweck habe ich mich eines besonderen Stamms mit dem "balancer"-Chromosom "First Multiple 1" (FM1) bedient, dessen genetische Konstitution und kreuzungstechnische Eigenschaften in der Abbildung 13 graphisch dargestellt und erklärt werden. Abbildung 12 enthält dann die Kreuzungen selbst, welche nach zwei Generationen zu Stämmen führen, die in beiden Geschlechtern für das jeweils zu untersuchende, dank der Inversionen von FM1 unverändert weitergereichte X-Chromosom reinerbig sind. Da sich bei diesen Manipulationen, durch Einkreuzen von FM1-Tieren, zwangsläufig der genetische Hintergrund der Mutanten verändert, habe ich Vergleichbares auch mit dem attached-X-Kontrollstamm O_{11} getan. Der dabei entstandene neue Kontrollstamm

Abbildung 11

Schema der Kreuzungsanalyse im Komplementationstest am Beispiel von zwei resessiven Mutationen auf dem X-Chromosom

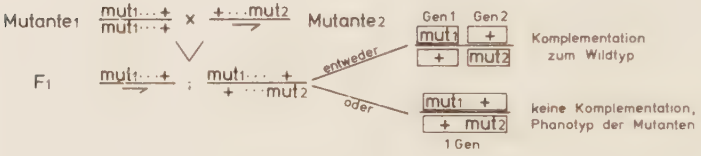
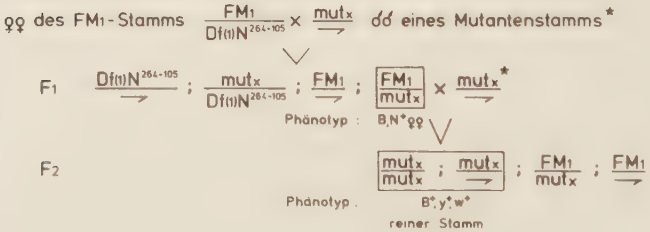


Abbildung 12

Kreuzungen zur Gewinnung reiner Mutantenstämme mit XX-XY-Konstitution

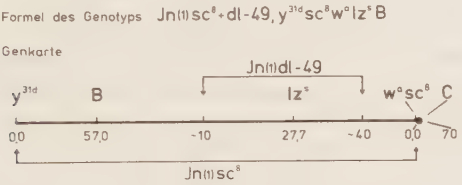


*Zur Gewinnung eines Kontrollstamms mit vergleichbarem genetischen Hintergrund wurden hier auch Männchen des attached-X-Stamms O_{11} eingesetzt.

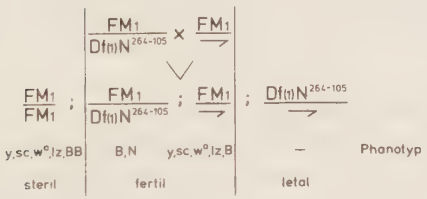
Abbildung 13 a und b

Genetische Konstitution des als "First Multiple 1" (FM1) bezeichneten X-Chromosoms (Abb. a) sowie Genotypen und Phänotypen des FM1-Stamms (Abb. b)

a)



b)



Erläuterung der genetischen Faktoren:

y^{31d}: Allel von yellow, Körperoberfläche gelblich
sc^{8}: Allel von scewed, Reduktion der Borsten verschiedener Körperteile
w^{a} : Allel von white (w. apricot), Augen gelblich-orange
lz^{s}: Allel von lozenge (l. spectacled), Augen verkleinert, mit "glatter" Oberfläche, homozygote Träger steril
B : Bar, Augen im heterozygoten Zustand deutlich, im homozygoten sehr stark verschmälert
$Df(1)N^{264-105}$: Defizienz auf dem X-Chromosom, verbunden mit der Mutation Notch (Flügelspitzen eingekerbt), homo- bzw. hemizygot letal

Das FM1-Chromosom ist vor allem durch die beiden Inversionen $In(1)sc^{8}$ und In(1)dl-49 gekennzeichnet, welche den Austausch mit einem zweiten X-Chromosom unwahrscheinlich machen und dieses so genetisch stabilisieren. Im heterozygoten Zustand kann FM1 aufgrund des dominanten Allels Bar gut erkannt werden, im homo- bzw. hemizygoten Zustand darüber hinaus vor allem an dem Markierungsfaktor y. Der Faktor lz^{s}, welcher homozygote Träger von FM1 steril sein läßt, dient der Balancierung eines nur aus zwei sich fortpflanzenden Genotypen bestehenden Stamms. Dieselbe Funktion hat die auf dem anderen X-Chromosom liegende Defizienz $Df(1)N^{264-105}$, die für den Tod aller Männchen sorgt, die nicht das FM1-Chromosom tragen.

trägt im folgenden, wegen seines Oregon-X-Chromosoms, die Bezeichnung "OrX".
Die auf solche Weise erzielten Mutantenstamme normaler XX-XY-Konstitution verhalten sich, wie erwartet, im UV-Blau-Versuch nicht anders als die Männchen der attached-X-Stämme, aus denen sie hervorgegangen sind. Einen auffallenden Unterschied zwischen den Geschlechtern finde ich, auch beim Wildtyp, kaum, wenngleich die Weibchen in ihren Reaktionen nicht ganz so lebhaft erscheinen als die Männchen und vielleicht zu etwas geringeren Q-Werten neigen (eine systematische Untersuchung mit statistisch zuverlässigen Ergebnissen fehlt allerdings). Jedenfalls sind alle Voraussetzungen erfüllt, im Komplementationstest mit den neu eingerichteten Stämmen als Kriterium für normales bzw. abnormes phototaktisches Verhalten wieder den Reaktionsquotienten im UV-Blau-Versuch zu verwenden und diesen so durchzuführen wie im ersten Teil beschrieben. Lediglich einige Abänderungen muß ich der Vollständigkeit halber aufzählen: Die Versuchstiere wurden jetzt vom Schlüpfen bis zum Tag des Tests stets in strengem 12-stündigem Hell-Dunkel-Wechsel gehalten, und zwar im Innern eines durch schwarzen Stoff lichtundurchlässig gemachten, von 8^{30}-20^{30} mittels einer 15 Watt-Leuchtstofflampe diffus erhellten Kastens (Lichtintensität 50-80µW/cm^2sec). Die Phototaxistests selbst mußten leider, da mir eine Klimakammer nicht mehr zur Verfügung stand, unter den notdürftig angepaßten Bedingungen eines gewöhnlichen Zimmers (bei 23-24°C und ca. 67-72% Luftfeuchtigkeit) stattfinden. Dennoch war die Versuchsanordnung bis auf neue Xenonlampen (150W/1 OFR) und eine zwangsläufig veränderte Nebenbeleuchtung (besorgt durch eine 60 Watt-Glühlampe, deren indirektes Licht das Röhrensystem des Apparats mit einer Intensität von ca. 0,6µWatt/cm^2sec trifft) einigermaßen wie früher. Über die nicht eben glücklichen (erst später exakt gemessenen) neuen Intensitätsverhältnisse der Versuchslichter gibt die Abbildung 14 Auskunft.
Die Besonderheit der dem Komplementationstest dienenden UV-Blau-Versuche besteht also im wesentlichen in der Verwen-

Abbildung 14

Intensität der Blau- und UV-Lichter in den Phototaxisversuchen der Komplementationstests

linke Seite		des Phototaxisapparats		rechte Seite
Blau-Licht (ungeschwächt)	$0{,}14 \cdot 10^{3}$	$\mu W/cm^2 sec$	$0{,}46 \cdot 10^{0}$	UV-Licht ($D=2{,}3 \cdot 10^{-2}$)
UV-Licht ($D=1{,}2 \cdot 10^{-2}$)	$0{,}41 \cdot 10^{0}$	$\mu W/cm^2 sec$	$0{,}82 \cdot 10^{2}$	Blau-Licht (ungeschwächt)

Die aufgeführten Werte geben die Energie desjenigen Lichtes an, das auf die Stirnseite des Röhrensystems fällt. D bezeichnet die gemessene Durchlässigkeit, d.h. den Abschwächungsfaktor der Neutralfilter (vergl. die Anmerkung zur Tabelle 5).

dung von weiblichen Fliegen eines aus zwei verschiedenen Stämmen gemischten Genotyps. Zwei Arten von Versuchstieren wurden geprüft: einerseits solche Fliegen, die im Sinne des Experiments aus Kreuzungen hervorgegangen sind, wie sie die Abbildung 11 schematisch darstellt, d.h. solche mit dem haploiden Genom jeweils zweier Mutanten, und andererseits Kontrolltiere, nämlich diejenigen der Stämme selbst sowie Hybride zwischen den einzelnen Mutanten und dem Wildtyp "Berlin" (statt "Berlin" hätte hier allerdings der Kontrollstamm OrX benutzt werden müssen). Stets habe ich die erforderlichen Kreuzungen reziprok angesetzt, um einseitige mütterliche Effekte zu vermeiden.
Die Ergebnisse der Komplementationsversuche werden in der Tabelle 18 vorgestellt. Man findet hier in der ersten Zeile und ersten Spalte der nach Art eines Kombinationsquadrats aufgebauten Darstellung zunächst (jetzt in kleinen Buchstaben) die Bezeichnung der miteinander gekreuzten Stämme. Die genetische Konstitution der Versuchstiere ergibt sich dann, aus einer Verbindung der jeweiligen väterlichen und mütterlichen Genome, an den Schnittpunkten des Schemas, wo direkt der mittlere Reaktionsquotient der betreffenden

Anmerkungen zur Tabelle 18:

* Statt der Großbuchstaben der attached-X-Stämme tragen die neu eingerichteten XX-XY-Stämme, unter Beibehaltung der Indizes, jetzt kleine Buchstaben.

Abweichungen von der normalerweise befriedigenden Beweglichkeit der Fliegen im UV-Blau-Versuch

① Beweglichkeit etwas vermindert

② Beweglichkeit gering

③ Beweglichkeit mäßig bis gering

④ Beweglichkeit mäßig

⑤ Beweglichkeit sehr mäßig bis gering

⑥ Beweglichkeit meist gering

⑦ Beweglichkeit etwas vermindert ?

Tabelle 18

Ergebnisse des Komplementationstests im UV-Blau-Versuch

Bezeichnung der gekreuzten Stämme ★	"Berlin"	OrX	a_2	a_4	l_5	m_2	a_{27}	a_{31}	a_{32}	b_8	d_2	f_3	i_3
"Berlin"	0,666(5) ±0,111												
OrX		0,518(5) ±0,082											
a_2	0,604(3)		-0,041 (3)②										
a_4	0,505(3)		0,406 (2)⑦	-0,566 (2)③									
l_5	0,564(3)		0,431 (2)	-0,197 (2)④	-0,40 (2)④								
m_2	0,783(2)		0,069 (2)②	0,424 (2)	0,326 (1)	-0,159 (2)⑤							
a_{27}	0,736(3)						-0,813 (2)	0,590 (2)	-0,891 (2)		-0,882 (2)		
a_{31}	0,695(2) ①					0,577 (2)		-0,806 (1)⑥					
a_{32}	0,706(3)								-0,912 (2)		-0,961 (1)		-0,886 (1)
b_8	0,719(2)									-0,791 (2)			-0,899 (2)
d_2	0,623(2)										-0,953 (2)	-0,95 (2)	
f_3	0,615(3)											-0,939 (2)	-0,931 (2)
i_3	0,579(3)												-0,941 (1)

an den Schnittpunkten des Kombinationsquadrats befindet sich der mittlere Reaktionsquotient, in Klammern die Versuchszahl der jeweils zugehörigen Ergebnisse im UV-Blau-Test

Testergebnisse (mit der Zahl der Versuche in Klammern) aufgezeichnet ist. Die Ergebnisse der einzelnen reinen Stämme sind in der Diagonalen der Tabelle angeordnet; diese gliedern sich deutlich in die schon früher unterschiedenen Gruppen des Wildtyps sowie der Typenkomplexe III und IV/IV'. Die übrigen Resultate müssen nun danach befragt werden, welcher der drei Reaktionscharakteristiken sie angehören. Ich möchte das im folgenden ausführen.

In der Zahlenkolonne ganz links stehen als erstes die Ergebnisse der Mutanten-Wildtyp-Hybriden. Ihr Verhalten ist ausnahmslos normal (lediglich der Stamm a_{31} zeigt, was seine stark eingeschränkte Beweglichkeit im Test angeht, nicht jedoch hinsichtlich des Reaktionsquotienten, einen schwach intermediären Effekt). Das bedeutet zweierlei: die für die hier betrachteten Merkmale verantwortlichen Gene bzw. Allele dürften auf dem X-Chromosom liegen und rezessiv in ihrer Wirkung sein; denn - zum einen - nähme man autosomale Faktoren an, so könnte es sich nach den Kreuzungen der Abbildung 12 (aus denen Stämme mit unverändert abnormem Verteilungsverhalten hervorgingen) höchstens um dominant autosomale handeln, was jedoch bei der diskutierten F_1 der Tabelle 18 (zweite Spalte) - wie in keinem einzigen Fall festzustellen - zu einer merklichen Verminderung der Q-Werte hätte führen müssen; sind aber - zum anderen - dominant autosomale Gene auszuschließen, dann geschlechtsgebunden dominante natürlich erst recht: also hat man es mit rezessiven, X-chromosomalen Faktoren zu tun. Da ein Komplementationstest - wie oben bemerkt - nur bei Mutanten mit rezessiven Allelen eindeutig interpretierbare Resultate liefert, bilden die Versuche mit den Wildtyp-Hybriden eine wichtige, glücklicherweise positiv ausgefallene Kontrolle, die weitere Erörterungen erst sinnvoll macht. Als nächstes kann ich deshalb zu den Ergebnissen des eigentlichen genetischen Tests übergehen. Diese befinden sich in den rechts und links von der Diagonalen gelegenen Feldern der Tabelle. Eine genauere Betrachtung der Zahlenwerte und der beigefügten Angaben ergibt, daß die Eigenschaften der gemischten Mutantenstämme

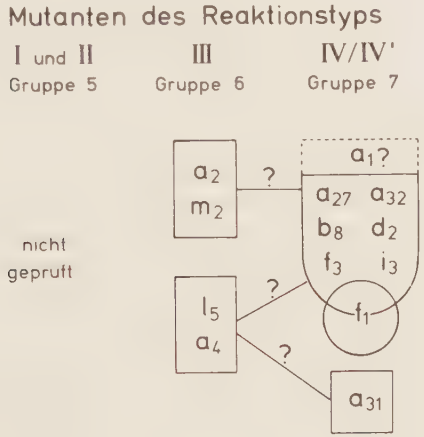
im UV-Blau-Versuch, und zwar sowohl der Reaktionsquotient als auch die Art der Beweglichkeit, sich im wesentlichen eindeutig entweder dem Wildtyp zuordnen lassen - was Komplementation bedeutet - oder den Merkmalen der jeweils miteinander gekreuzten Mutanten gleichen - woraus deren Zugehörigkeit zur selben Komplementationsgruppe folgt. Allerdings passen die mit den Stämmen des Typs III erhaltenen Ergebnisse nur mit Einschränkung in dieses einfache Schema: nie scheint bei ihnen - wenn die freilich wenigen Zahlen nicht täuschen - Komplementation ganz vollständig zu sein und auch die Reaktionsnorm der Mutanten wird nur mangelhaft erreicht. Dennoch dürfte, auch ohne statistische Berechnungen, klar genug sein, welche Stämme ihre Eigenart der Veränderung ein und desselben Gens verdanken. Es sind das folgende: m_2 und a_2; l_5 und a_4; ferner a_{27}, a_{32}, b_8, d_2, f_3, i_3; und schließlich bildet a_{31} anscheinend eine eigene Gruppe. - Um die Aufzählung der Ergebnisse vollständig zu machen, muß ich noch von den Mutanten a_1 und f_1 berichten, die in der Tabelle 18 fehlen. Erstere ist leider kurz nach den Kreuzungen mit dem FM1-Stamm verlorengegangen. Obwohl sich also über die Zugehörigkeit von a_1 nichts Sicheres sagen läßt, bin ich doch geneigt, auch diese Mutante der großen Komplementationsgruppe der Stämme a_{27}-i_3, mit denen sie viel Ähnlichkeit hatte, zuzurechnen. Verläßlicher ist eine solche Zuordnung für die Mutante f_1. Nachdem ich zunächst geglaubt hatte, das absonderliche Verhalten der Fliegen dieses Stamms (siehe Tabelle 9b) müsse wohl eine ganz eigene genetische Grundlage haben, erwies sich das nämlich in einer später durchgeführten Kreuzung mit f_3-Fliegen als nur teilweise richtig: die Mischlinge der ersten Nachkommenschaft waren zwar, was das eigentümliche Schreckverhalten angeht, erwartungsgemäß normal, glichen jedoch bezüglich ihrer Reaktion im UV-Blau-Versuch ganz und gar der Mutante f_3. Anscheinend - das ist zumindest die einfachste Erklärung der vorliegenden Befunde - handelt es sich bei f_1 um eine Doppelmutante; diese trägt vermutlich mit dem einen der beiden zu postulierenden Erbfaktoren ein weiteres Allel des

für die Anomalie von nunmehr sieben oder acht Stämmen des Typs IV verantwortlichen Gens. Abbildung 15 faßt die aus den Ergebnissen der Komplementationsversuche gewonnenen Schlußfolgerungen schematisch zusammen. Zugleich wird angedeutet, was unklar bleibt. Hierfür gibt es zwei Gründe: Erstens sind wichtige, die Beziehungen zwischen den Mutanten aufdeckende Tests versäumt worden. So muß offen gelassen werden, ob nicht die beiden Komplementationsgruppen des Typs III mit denen des Typs IV/IV' in der einen oder anderen Weise durch eine gemeinsame genetische Basis verbunden sind. Zweitens ist grundsätzlich zu bedenken, daß die Resultate von Komplementationsversuchen nicht in jeder Hinsicht zu verläßlichen Schlüssen führen. Da nämlich - zumindest bei Bakterien - eine meist allerdings nur unvollständige Ergänzung zum Wildtyp gelegentlich auch zwischen Allelen desselben Gens auftritt (intracistronale Komplementation), bleibt eine Zuordnung sich ergänzender Mutanten zu verschiedenen Komplementationsgruppen immer etwas zweifelhaft, ist also die Aufgliederung in getrennte genetische Klassen nicht mit gleicher Sicherheit möglich wie die Zusammenfassung zu ein und derselben. In diesem Sinne halte ich es zwar nicht für wahrscheinlich, wohl aber für denkbar, daß z.B. die vier Stämme der Gruppe 6 ihre Erbanomalien Allelen eines einzigen Gens verdanken. Und nur ein vorsichtiges Resümee scheint mir angebracht: die in der vorliegenden Arbeit gefundenen 13 Mutanten mit starker Veränderung der UV-Blau-Reaktion verteilen sich auf <u>höchstens</u> vier (nach später noch genannten Befunden aber doch eher auf genau vier) Komplementationsgruppen.

Schon früher ist mehrfach und aus verschiedenen Gründen vermutet worden, daß eine größere Anzahl der Mutanten des Typenkomplexes IV/IV' auf einer Mutation an ein und demselben Genort beruht (vergl. die Überlegungen im Abschnitt c der Diskussion des ersten Teils). Diese Erwartung wird durch die Ergebnisse der soeben beschriebenen Versuche in bemerkenswerter Weise noch übertroffen: von der schlechter beweglichen Mutante a_{31}, dem einzigen Vertreter des Typs IV' abgesehen, gehören alle getesteten Stämme mit extrem abnormer UV-Blau-

Abbildung 15

Schematische Übersicht über die Komplementationsgruppen der gefundenen UV-Blau-Mutanten



Das Symbol —?— bedeutet, daß eine Beziehung im Komplementationstest nicht geprüft worden ist.
Zur Bezeichnung der Gruppen bzw. Typen (= Typenkomplexe) siehe Abbildung 9 und Tabelle 9b.

Reaktion der gleichen Komplementationsgruppe an. Die Zahl der Gene auf dem X-Chromosom, welche aufgrund von Erbänderungen ein solches Verhalten verursachen können, mag also ziemlich klein sein. Jedenfalls hat man es bei den sieben oder acht durch eine gemeinsame genetische Basis verbundenen Stämmen mit Mutanten zu tun, die in der Wulf'schen Phototaxisapparatur - unter den von mir angewendeten Bedingungen - besonders effektiv zu Tage gefördert werden; sonst wären nicht so relativ viele Allele eines Gens gefunden worden. Nur mit der Charakterisierung dieser Mutanten - genauer gesagt des Stamms f_3 - habe ich mich fast ausschließlich noch beschäftigt; denn bei ihnen hielt ich es für am wenigsten wahrscheinlich, daß sie von der Arbeitsgruppe Benzers oder Paks, unter Verwendung einer wesentlich anderen Methode, bereits gefunden worden waren.
Tatsächlich ist aus der von mir als "außer aller Konkurrenz" eingeschätzten Komplementationsgruppe bereits ein Allel bekannt gewesen. Es handelt sich dabei um die Mutante "sevenless", welche im Laboratorium von Benzer gefunden und von Harris, Stark und Walker (1976) zum erstenmal beschrieben wurde. Kreuzungen von sevenless-Fliegen (die ich Herrn Dr. Stark verdanke) mit meinem f_3-Stamm ergaben nämlich eindeutig keine Komplementation. Als Testmerkmal in diesem letzten hier erwähnten genetischen Versuch hat allerdings nicht mehr das UV-Blau-Verhalten im Phototaxisapparat gedient; denn schon vorher, wenn auch spät genug, war herausgekommen, daß sämtliche sieben Mutanten der f_3-Gruppe eine gewisse, an sich leicht überprüfbare anatomische Anomalie eines bestimmten Photorezeptors besaßen, die bereits "sevenless" ihren Namen gegeben hatte. Damit werde ich mich nun im nächsten Abschnitt noch beschäftigen.

3) Beobachtungen zur anatomischen Charakterisierung

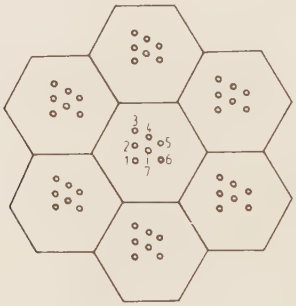
Ich beginne mit einer kurzen, mehr schematischen Darstellung der normalen Struktur des Komplexauges von Drosophila. Dieses besteht bekanntlich aus etwa 700, im wesentlichen gleichartigen, hexagonal angeordneten Sehelementen, den

sogenannten Ommatidien, deren Beschaffenheit in der Abbildung 16a im Längsschnitt gezeigt wird. Die hier skizzierten anatomischen Bestandteile jeder Seheinheit lassen sich nach funktionellen Gesichtspunkten zu drei Untereinheiten zusammenfassen: sie bilden erstens den dioptrischen Apparat, durch den das Licht wie in einem Linsensystem zu den rezeptiven Strukturen des Ommatidiums gelenkt wird; zweitens eine Art Mantel aus Pigmentzellen, der die einzelnen Ommatidien optisch isoliert, schräg einfallendes Licht abfängt und zugleich als wellenlängenselektiver Schutzfilter wirkt; und schließlich drittens den der Aufnahme und Umwandlung des Lichtreizes dienenden Komplex der Sinnes- oder Rezeptorzellen (kurz auch als "Rezeptoren"bezeichnet). Da bei der Mutante "sevenless" und auch bei f_3-Fliegen anatomische Abweichungen vom Normalen nur im Bereich der Sinneszellen gefunden worden sind, muß ich diese nun genauer beschreiben. Wie Trujillo-Cenoz und Melamed (1966) als erste an Fliegen der Gattung Sarcophaga und Lucilia nachgewiesen haben, besitzen die Ommatidien der Dipteren acht Photorezeptoren, und zwar jeweils sechs Zellen (R_1-R_6) eines längeren Typs, dessen Soma sich von proximal über etwa $\frac{4}{5}$ des Ommatidiums erstreckt, und zwei Zellen (R_7 und R_8) mit kürzerem Soma, eine obere und eine untere, die erst zusammengenommen dieselbe Länge einnehmen wie die sechs übrigen (Abb. 16b) Alle Rezeptoren liegen, wenn man den Querschnitt durch ein Ommatidium betrachtet(Abb. 16c),mehr oder weniger ringförmig um einen zwischen ihnen frei bleibenden zellenlosen Raum, in den die Licht leitenden und absorbierenden Strukturen, die sog. Rhabdomere hineinragen. Diese erscheinen im Längsschnitt als stab- oder leistenförmige, über die gesamte Länge eines Sinneszellsomas reichende, stark lichtbrechende Fortsätze; im Querschnitt bilden sie rundlich-ovale, nicht miteinander verbundene Ausstülpungen ganz bestimmter, sich in allen Ommatidien regelmäßig wiederholender Anordnung: sechs Rhabdomere, nämlich diejenigen der langen Rezeptoren R_1-R_6, stehen in den Ecken einer annähernd trapezförmigen Figur, deren Mitte von einer im Durchmesser deutlich klei-

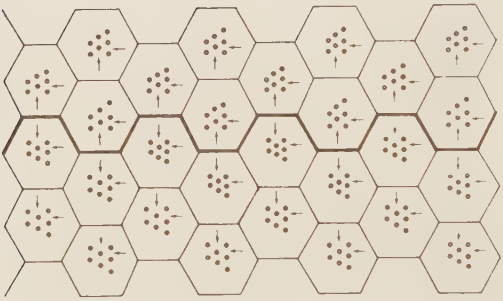
Abbildung 17

Schematischer Querschnitt durch das Komplexauge in Höhe der 7. Rezeptorzelle

a



b

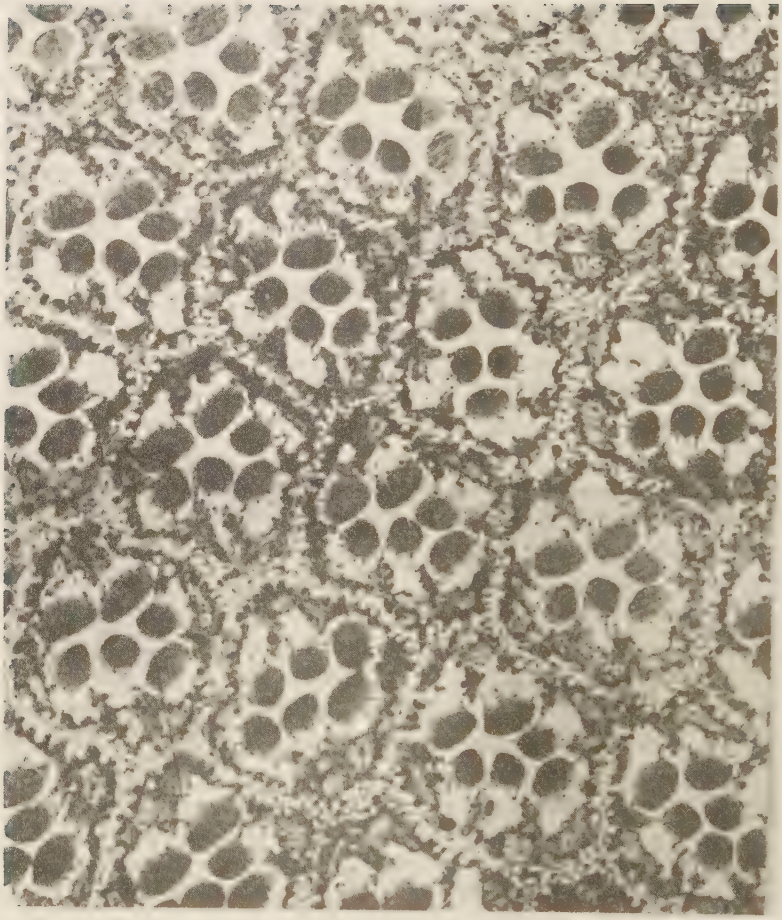


a : Schematischer Querschnitt mit den Umrissen von sieben Ommatidien und der Anordnung der zugehörigen Rhabdomere

b : Schematischer Querschnitt im Bereich des Augenäquators, dessen Lage durch die dick ausgezogene Linie angedeutet ist. Die vertikalen Pfeile geben die Richtung an, in der die 7. Rezeptorzelle in das Innere des jeweiligen Ommatidiums vorspringt; die waagerechten Pfeile tun das gleiche für die 8. Zelle.

Methode (Ribi, 1976) brachte noch bessere Ergebnisse. Die fixierten Präparate wurden in Durcupan ACM eingebettet, die dann hergestellten Ultradünnschnitte im Elektronenmikroskop EM 9S der Firma Zeiss fotographiert.
Die elektronenmikroskopische Aufnahme eines in Höhe der 7. Rezeptorzelle durch das Auge einer f_3-Mutante geführten Querschnitts zeigt die Abbildung 18. Es besteht kein Zweifel, daß die sechs äußeren, großen Rhabdomere vorhanden sind, das zentrale 7. aber fehlt. Dies ist nach Harris, Stark und Walker (1976) auch das ins Auge springende Hauptmerkmal von sevenless. Darüber hinaus haben Campos-Ortega, Jürgens und Hofbauer kürzlich (1979) nachgewiesen, daß es die gesamte 7. Rezeptorzelle, also auch deren Soma und Axon, bei sevenless nicht gibt. Eine entsprechende Präzisierung des anatomischen Defekts wage ich aufgrund meiner elektronenoptischen Bilder nicht vorzunehmen, weil sich der Verlauf der Zellgrenzen nur schlecht verfolgen läßt; doch war die Suche nach mehr als sechs Zellkörpern im distalen Bereich des Ommatidiums - noch in Unkenntnis der zuletzt genannten Veröffentlichung vorgenommen - jedenfalls vergeblich gewesen. - Da ich zu Anfang meiner Untersuchungen mit der Möglichkeit eines noch vorhandenen Somas der 7. Rezeptorzelle gerechnet hatte, hielt ich es für wichtig zu klären, ob nicht irgendwo - gelegentlich oder sogar regelmäßig - ein Überrest auch des zugehörigen Rhabdomers versteckt wäre. Deshalb hat Frl. Tscharnke Serienquerschnitte durch ein Augenpräparat eines f_3-Tiers angefertigt, die in 3μ-Abständen von der Cornealinse bis in 66μ Tiefe reichen. Weder am distalen Rhabdomerenende in 21μ Tiefe noch in den darauf folgenden Schnittebenen aber wurde bei irgendeinem der erfaßten Ommatidien auch nur die Andeutung eines zentralen Rhabdomers entdeckt. Dieses beginnt erst bei 54μ, also ungefähr in dem Bereich, wo bereits R_8-Zellen erwartet werden können, und zwar zunächst lediglich in einzelnen, ab 60μ Tiefe dann in allen senkrecht getroffenen Ommatidien (Abb. 19a, b, c). Freilich ist nicht zu entscheiden, ob die vereinzelt vorgefundenen zentralen Rhabdomere tatsächlich schon einer unteren, 8.Zel-

Abbildung 18

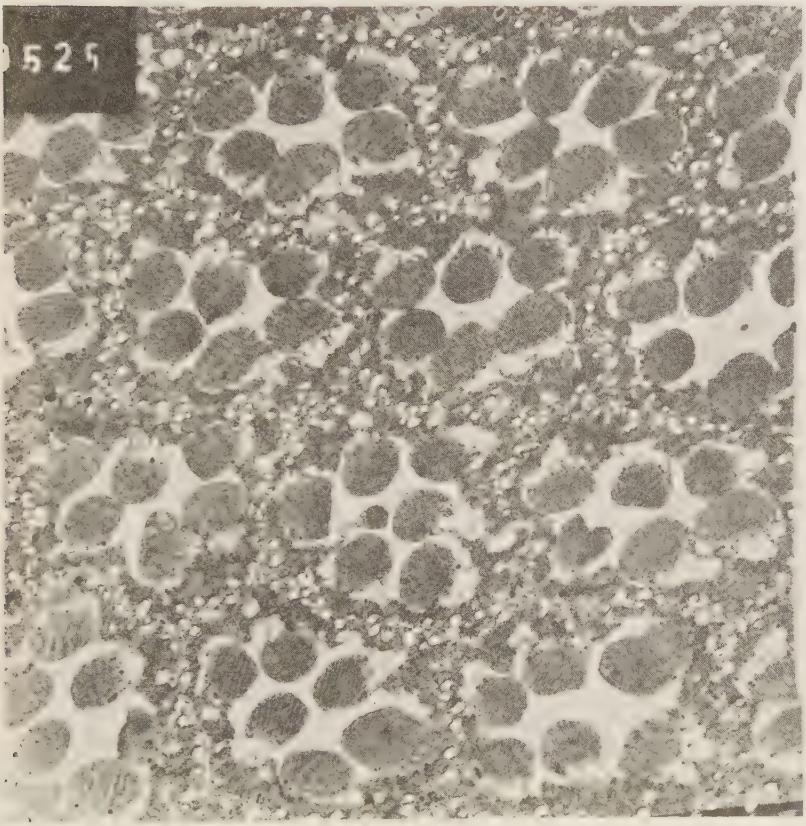


Querschnitt durch das Auge der f_3-Mutante (Tier A) in 30μ Tiefe. Die sechs äußeren Rhabdomere sind als Kollektiv aufgrund ihrer Lage und Größe eindeutig zu identifizieren, wenngleich eine individuelle Zählung wegen der stark gestörten, erheblich variierenden Anordnung nicht möglich ist. Ein kleineres, zentrales Rhabdomer fehlt offensichtlich. Dieses ist in proximalen Querschnitten stets vorhanden (vergl. Abb. 21).
Oberhalb der Mitte ein sehr seltenes Ommatidium mit nur fünf Rezeptorzellen.

Endvergrößerung ca. 3600fach

Abbildung 19 a, b und c

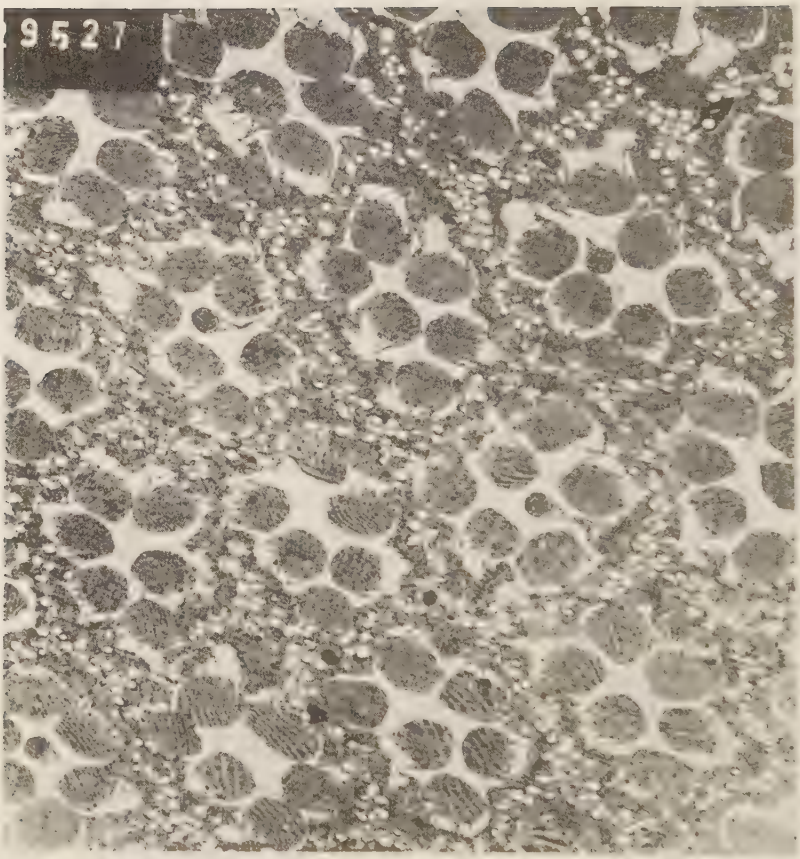
Serien-Querschnitte durch das Auge eines f_3-Tiers (A)



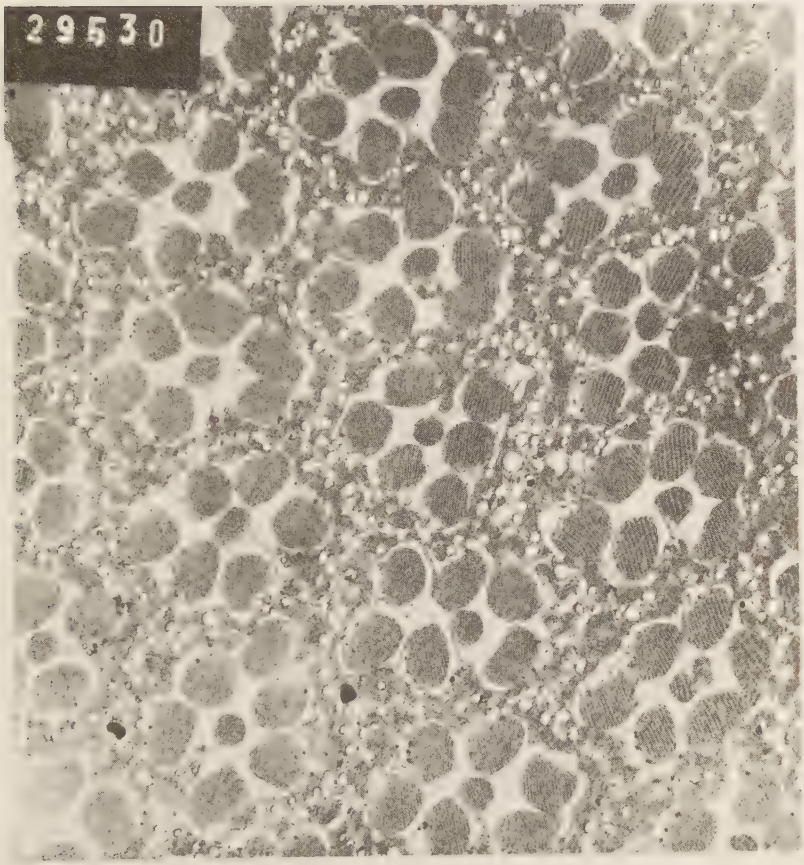
a 54μ Tiefe

Ein zentrales, von der 8. Rezeptorzelle beigesteuertes Rhabdomer wird ab ungefähr 60μ Tiefe erwartet.

Endvergrößerung ca. 5600fach



b 57μ Tiefe



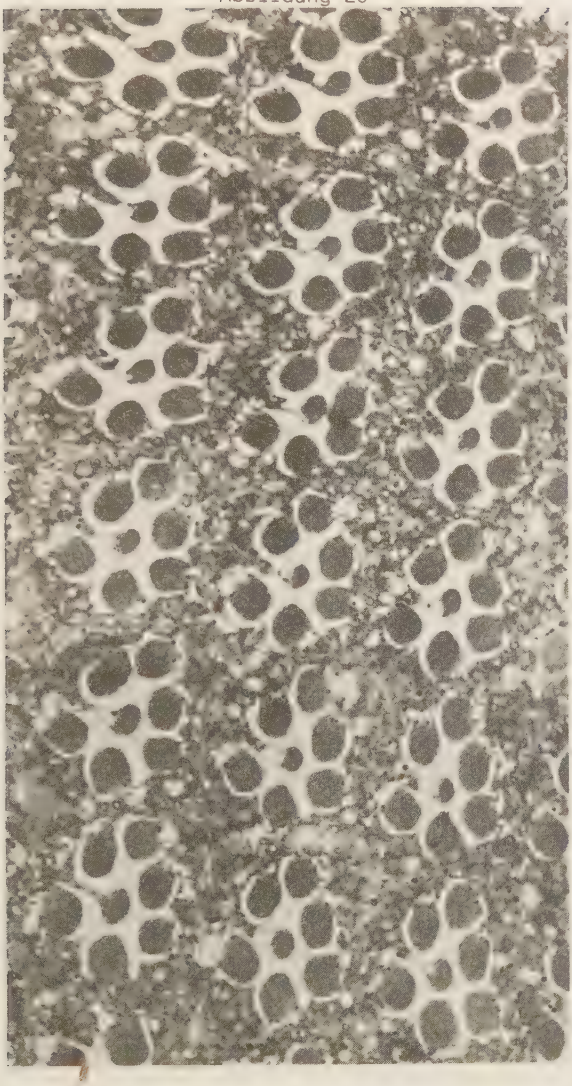
c 63μ Tiefe

le angehören oder doch ein proximales Anhängsel von 7. Rezeptoren darstellen. - Diese Frage wäre allerdings gegenstandslos, wenn man den oben erwähnten von Campos-Ortega und seinen Mitarbeitern an sevenless gewonnenen Befund auch für Träger des f_3-Allels gelten ließe. Die zitierten Autoren berichten im übrigen - ebenso wie schon Heisenberg und Buchner (1977) in einer ihrer Arbeit angefügten Fußnote -, daß sich bei der sevenless-Mutante bis zu 25% der R_8-Zellen (die aufgrund entwicklungsbiologischer Experimente als solche identifizierbar sind) in der Position einer Rezeptorzelle Nr. 7 befinden können, von der sie sich anscheinend nur durch ein um 15µ, höchstens 25µ nach proximal verschobenes Rhabdomer unterscheiden. Derartige aberrante Lichtleiterstrukturen habe ich nicht gefunden, mag das an dem untersuchten Individuum liegen oder auf einer genetisch bedingten Andersartigkeit des f_3-Stamms beruhen. Jedenfalls wird man im Hinblick auf die Besonderheiten von sevenless weniger zögern, ein zentrales Rhabdomer wie das der Abbildung 19a als zu einer leicht nach distal verschobenen 8. Rezeptorzelle zugehörig anzusprechen.

Bei der Auswertung der Schnittserien bin ich auf einige weitere Besonderheiten aufmerksam geworden, die in den zitierten Arbeiten über die Mutante sevenless nicht erwähnt werden. Es sind dies Anomalien im proximalen Bereich des Ommatidiums, also dort, wo an sich alle sieben Rezeptorzellen vollständig vorliegen. Folgendes wurde beobachtet:

1. Die normalerweise streng regelmäßige Anordnung der sechs peripheren Rhabdomere ist proximal zwar nicht so stark gestört wie distal (siehe Abb. 18), aber auch dort keineswegs so präzise wie beim Wildtyp. Das zeigt ein Vergleich der Abbildungen 20 und 21.
2. Beachtlicher noch ist die Variabilität der 8. Zelle: statt von der stets gleichen Seite in nahezu exakt eingehaltenem Winkel in das Innere des Ommatidiums vorzustoßen (Abb. 20, vergl. Abb. 17b), kommt sie bei der Mutante aus sehr verschiedenen Richtungen. Man erkennt das unschwer bereits auf den Abbildungen 19c und 21; das Ergebnis einer

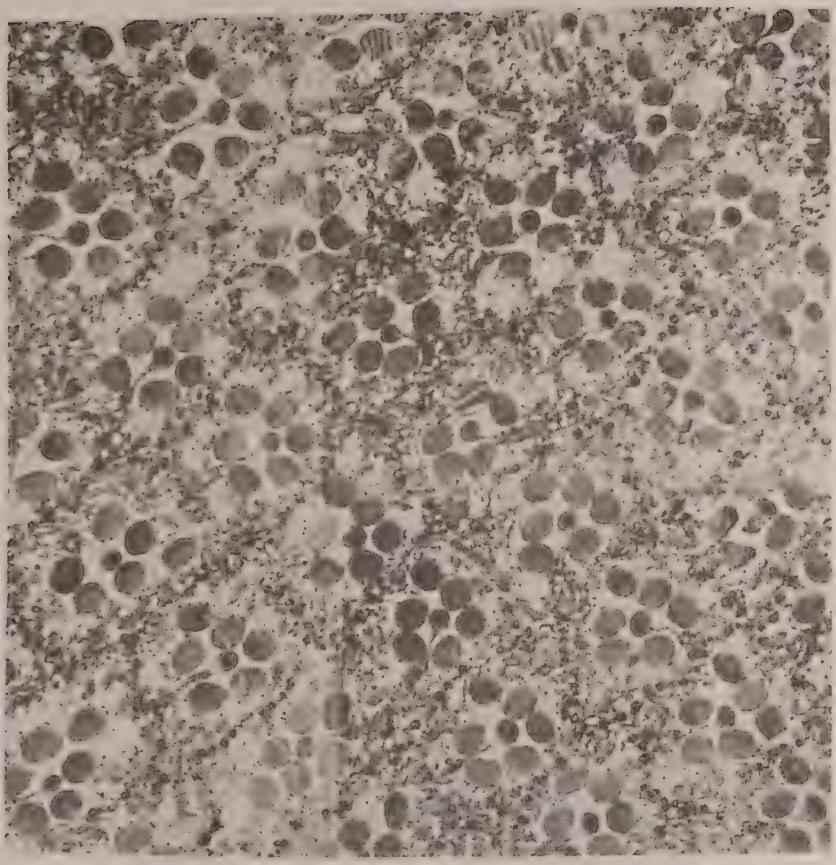
Abbildung 20



Querschnitt durch das Auge eines Wildtyp-Männchens, Tiefe 50μ
Es ist bereits die 8. Rezeptorzelle getroffen. Offensichtlich besteht hier die trapezförmige Anordnung der Rhabdomere, welche man im Bereich der 7. Zelle stets findet, nicht mehr, doch ist die Gleichförmigkeit des räumlichen Musters keineswegs geringer. Diese tritt auf dem an sich zu dunklen Abzug des Fotos besonders deutlich hervor.

Endvergrößerung ca. 4500fach

Abbildung 21



Querschnitt in 75μ Tiefe durch das Auge einer f_3-Fliege (Tier C). Mehrere im Text genannte Unregelmäßigkeiten der Rezeptorzellen 1-6 und 8 sind sichtbar.

Endvergrößerung ca. 4000fach

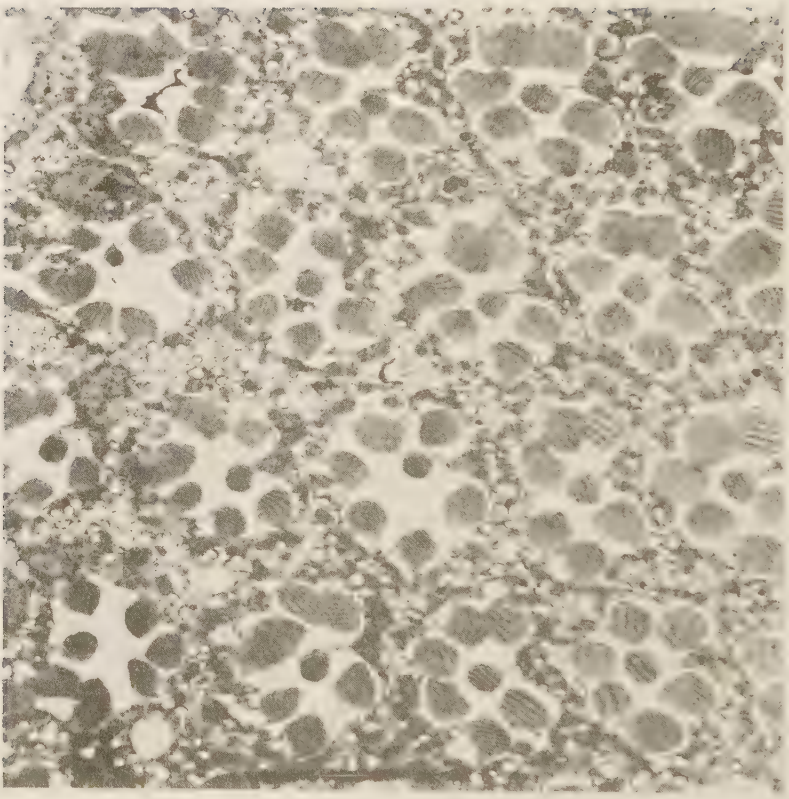
systematischen Analyse von drei f_3-Tieren und einer Wildtypfliege wird in der Tabelle 19 vorgestellt. Wie man hier sieht, streut die Lage der 8. Zelle bei der Mutante ziemlich breit, doch nicht in regelloser Weise; vielmehr ist eine Vorzugsrichtung - in der Tabelle 19 willkürlich dem Winkelbereich 165-179° zugeordnet - deutlich vorhanden, und eine Abweichung davon scheint häufiger nach der einen als nach der anderen Seite vorzukommen.[1] Das gilt für proximal geführte Querschnitte. Dagegen taucht bei den mehr in der Mitte (in 60µ Tiefe) getroffenen Rhabdomeren des Tiers B eine größere Anzahl von der Hauptrichtung abweichender zentraler Rezeptoren auf, deren Winkelbeziehungen weiter unten - im selben Präparat - gerade besonders selten sind, nämlich Zellen mit um 60 und 120 Grad zu (in meiner Meßweise) kleineren Winkeln verschobener Lage. Ich hatte ursprünglich gedacht, hier auf proximale Rhabdomerenstücke von R_7-Zellen gestoßen zu sein (die bei etwa 90° zu erwarten wären). Doch würde es sich, wenn man den schon genannten Befunden von Campos-Ortega u.a. folgt, eher um R_8-Zellen handeln, welche aus der proximalen in die distale Position versetzt sind. Solche gibt es also in den Ommatidien von f_3-Tieren vielleicht doch, obgleich sie bei dem einen Individuum (A), für das Serienschnitte angefertigt wurden, offensichtlich fehlt.

3. Am auffallendsten schließlich sind Mißbildungen, welche hauptsächlich die peripheren Rhabdome betreffen; ich habe sie distal nur sehr selten, proximal aber zum Teil in geradezu erschreckender Anzahl gefunden. Es handelt sich meistens um Verwachsungen der normalerweise streng getrennten Lichtleiterstrukturen (Abb. 22), gelegentlich auch sind ein oder zwei Rhabdomere überhaupt nicht vorhanden[2] (Abb. 21, oben rechts) und stellenweise trifft man auf regelrecht wuchernde Deformationen (Abb. 23).Häufigkeit und Schweregrad dieser Anomalien scheinen von Individuum zu Individuum sehr

[1] Über die absolute Richtung der Abweichung läßt sich nichts aussagen; sie könnte auch bei verschiedenen Präparaten unterschiedlich sein.

[2] ob die zugehörigen Zellen ganz fehlen, ist nicht zu entscheiden.

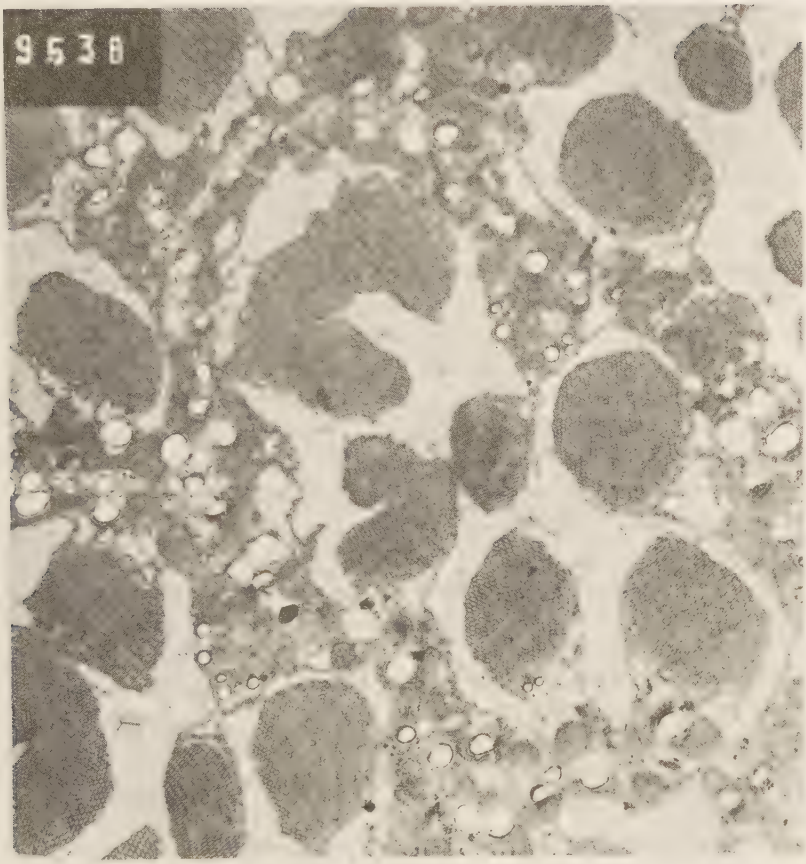
Abbildung 22



Querschnitt in 66μ Tiefe durch das Auge des f_3-Tiers A.
Bei einer ganzen Reihe von Rhabdomeren sind Verwachsungen unterschiedlichen Grades deutlich zu erkennen. Zum Teil scheinen sich benachbarte Lichtleiterstrukturen nur eng aneinanderzuschließen, in anderen Fällen hat sich ein einheitlicher Komplex mit gemeinsamer Zellmembran und einheitlicher Mikrovilli-Richtung gebildet.

Endvergrößerung ca. 5500fach

Abbildung 23



Querschnitt in 66μ Tiefe (Tier A).
In dem hier voll abgebildeten Ommatidium - ebenso wie in den nur teilweise getroffenen angrenzenden - treten Verwachsungen, Deformationen und wuchernde Auswüchse in besonders großer Anzahl auf. Die Richtung der Mikrovilli steht häufig senkrecht (statt parallel) zur Schnittebene. Das zentrale Rhabdomer scheint normal zu sein.

Endvergrößerung ca. 12600fach

verschieden sein (Tab. 20); doch könnte ein solcher Eindruck durch den Vergleich unterschiedlich stark betroffener Schnittebenen vorgetäuscht werden.
Alle genannten Anomalien habe ich auch in Querschnitten durch das Auge einer sevenless-Fliege gefunden (Abb. 24). -

Die bei den Tieren des sevenless- und des f_3-Stamms festgestellten anatomischen Defekte der Photorezeptoren demonstrieren ein Problem, das sich grundsätzlich immer stellt, wenn zur Analyse des Sinnes- und Nervensystems Mutanten mit abnormen Verhaltenseigenschaften benutzt werden. Zwar nämlich verursachen Mutationen auf dem Niveau der Gene eng umschriebene Veränderungen; deren Folgewirkungen im komplexen neuralen und sensorischen Gefüge des Organismus können aber sehr vielfältiger Art sein. Schon deshalb verwundert es nicht, daß die meisten der bisher genauer untersuchten Verhaltensmutanten vor dem Hintergrund des noch recht beschränkten Wissens mehr Rätsel aufgegeben als Lösungsansätze geliefert haben. "Sevenless" dürfte hier - cum grano salis - eine Ausnahme sein; zumindest galt bis vor kurzem ihr Strukturdefekt - das Fehlen der 7. Zelle - als klar umrissen, und das wiederum war der Ausgangspunkt für erfolgreiche und wertvolle experimentelle Tests, die teils zur Bestätigung, teils zur Widerlegung bestehender Vorstellungen über die Funktion der Photorezeptoren des Fliegenauges geführt haben (Stark, 1975; Harris, Stark und Walker, 1976; Heisenberg und Buchner, 1977). Die genannten Beobachtungen von Anomalien auch der Rezeptoren 1 bis 6 und 8 allerdings mögen wenigstens ein warnender Hinweis sein: die Mutation als "mikrochirurgisches Werkzeug" - um Benzers Formulierung zu benutzen - operiert eben häufig doch nicht so sauber und scharf wie man es gerne wohl hätte; eine Analyse der Mutanten des sevenless-Locus jedenfalls wird nicht einfach voraussetzen dürfen, daß alle sinnesphysiologischen Eigenschaften, durch welche sich die Träger der betreffenden Allele vom Wildtyp unterscheiden, auf dem Funktionsausfall eines einzigen Elements, eben der 7. Retinulazelle beruhen. -
Bisher ist nur von der anatomischen Charakterisierung der

Tabelle 20

Häufigkeit und Schweregrad von Anomalien der peripheren Rhabdomere im proximalen Bereich

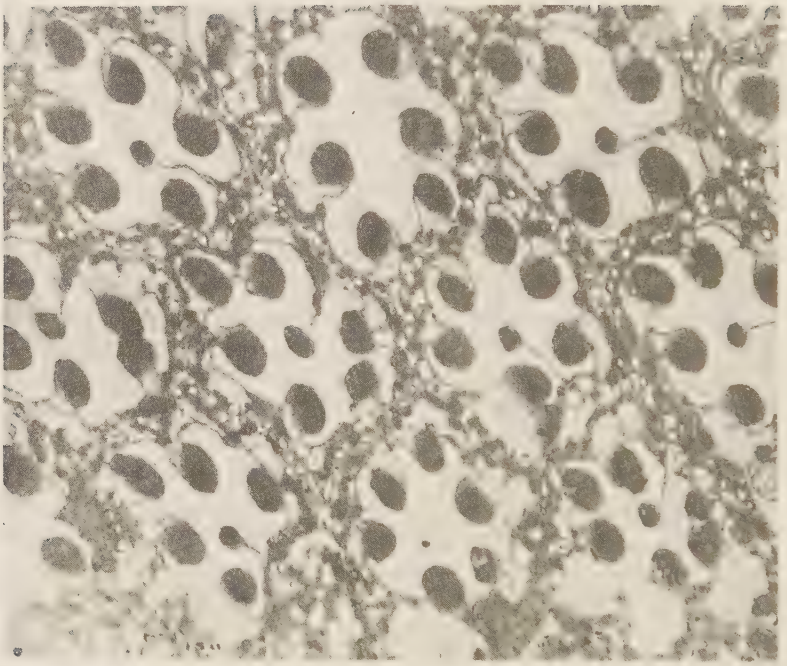
	Wildtyp ♂	Tier A	Tier B		Tier C
	50µ	66µ	60µ	75µ	75µ
mittlere Häufigkeit von Anomalien pro Rhabdom	0**	1,04	0,53	0,52	0,21
Anteil der Rhabdome mit mindestens einer Anomalie	0	73,8%	53,2%	52,4%	17,0%
Anteil der schwereren Mißbildungen bezogen auf sämtliche Anomalien *	-	0,4	0,15	0,2	0,75***
Anzahl der ausgewerteten Rhabdome	48	103	79	82	47

*als "schwerere" Mißbildungen sind starkere Verwachsungen und Deformationen sowie das Fehlen von Rhabdomeren gezahlt

**um Verläßliches uber die Haufigkeit von Anomalien beim Wildtyp aussagen zu konnen, mußte man natürlich auch hier mehrere Tiere untersuchen

***dieser Anteil ist deshalb so hoch, weil beim Tier C die sonst seltenen Ommatidien mit weniger als sechs Rhabdomeren außergewöhnlich häufig sind

Abbildung 24



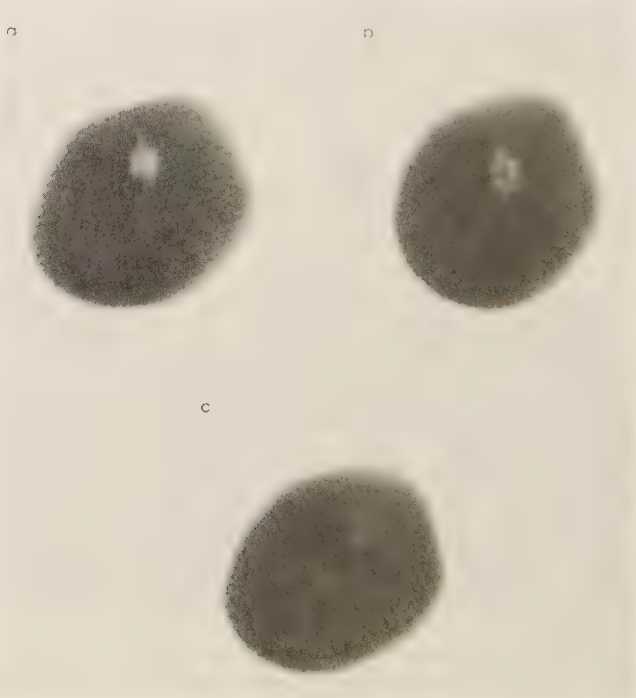
Querschnitt durch das Auge einer sevenless-Fliege in 75μ Tiefe. Man sieht verschiedene Mißbildungen nebeneinander: Verwachsungen (Mitte links und unten rechts), ein Ommatidium mit nur 5 peripheren Rhabdomeren (unten links) und R_8-Zellen wechselnder Lage. Die erste der genannten Anomalien ist - zumindest bei diesem Tier und in dieser Schnittebene - eher von mäßiger Häufigkeit (unter 30 Ommatidien zeigten sechs Verwachsungen), Ommatidien mit unvollständigem peripheren Rhabdom treten dagegen relativ oft auf (3 Fälle unter 30). Außerdem findet man nicht selten Ommatidien ohne zentrales Rhabdomer (oben Mitte), was ich bei f_3-Fliegen in 75μ Tiefe nie gesehen habe. Vermutlich ist hier das fehlende Element (wie die schon mehrfach zitierten Autoren schreiben) in die obere Position der 7. Zelle verschoben, wo denn auch tatsächlich - in 45μ Tiefe - eine ganze Reihe zentraler Rhabdomere vorkommen.

Endvergrößerung ca. 5800fach

Mutante f_3 die Rede gewesen. Ich komme nun zum Schluß noch kurz auf die anderen Stämme der Typen III und IV/IV' zu sprechen. Sechs von diesen Stämmen dürften aufgrund der Komplementationsversuche (siehe Abb. 15) ebenfalls als sevenless-Allele angesehen werden; doch habe ich eine detaillierte elektronenmikroskopische Untersuchung des zu erwartenden Strukturdefekts nicht vorgenommen. Statt dessen wurde einfach nur summarisch das Fehlen des Lichtleiterelements Nr. 7 nachgewiesen, und zwar durch lichtmikroskopische Abbildung der distalen Rhabdomerenenden als sogenannte tiefe Pseudopupille, einer von Franceschini entwickelten, relativ leicht und schnell durchführbaren optischen Methode zur Untersuchung des Rhabdoms an lebenden Fliegen (Franceschini, 1975). Von den beiden verfügbaren Varianten des Verfahrens habe ich diejenige benutzt, bei welcher das Auge von unten her ("antidrom", d.h. in umgekehrter Richtung wie natürlich) durchstrahlt wird. Um das zu erreichen, genügt es, eine betäubte Fliege in seitlicher Lage, das eine Auge also nach oben gerichtet, mit farblosem Nagellack auf einen Objektträger zu kleben und den Kopf des Tiers vermittels der Mikroskopierlampe bei kleiner Blende möglichst stark zu beleuchten. Das Licht tritt dann von proximal in die Lichtleiterelemente ein und gesammelt an ihren distalen Enden wieder aus, welche infolgedessen als helle Scheiben aufleuchten. Diese sind allerdings, weil der im umgekehrten Strahlengang nachgeschaltete dioptrische Apparat ihr Bild zerstört, ohne Anwendung weiterer Hilfsmittel direkt nicht sichtbar; wohl aber ist die Beobachtung eines virtuellen Abbildes möglich, das sich mit geeigneter Optik etwa 200μ unterhalb der Augenoberfläche scharf einstellen läßt, eben der "tiefen Pseudopupille". Wie eine solche normalerweise aussieht, zeigt die Abbildung 25a. Man findet also sieben Lichtpunkte beachtlicher Größe und Helligkeit vor, welche die typische trapezförmige Anordnung der Fliegenrhabdomere aufweisen. Dabei kann es sich natürlich nicht um die optische Wiedergabe eines einzelnen Rhabdoms handeln; vielmehr treten die virtuellen Bilder der distalen Lichtleiterenden einer ganzen

Abbildung 25 a, b und c

Lichtmikroskopische Aufnahmen der tiefen Pseudopupille



a bei einer Wildtypfliege: man sieht deutlich die Bilder von sechs trapezförmig angeordneten, peripheren Rhabdomeren und das des kleineren zentralen Lichtleiterelements.

b bei einer f_3-Fliege: die Pseudopupille besteht aus nur sechs Elementen unregelmäßiger Anordnung; ein zentrales 7. Element fehlt.

c bei einer älteren Fliege des Stamms a_{31}: von den sieben Lichtpunkten, die man bei jungen Tieren findet, ist nur noch einer vorhanden. Es handelt sich hier zweifellos um das - wenn auch unscharfe - Abbild des zentralen Rhabdomers; denn häufig findet man in seinem Umkreis noch die Überreste aller oder einiger peripherer Elemente.

Vergrößerung des Objektivs 10fach, Apertur sin u = 0,22

Gruppe benachbarter Ommatidien - nämlich all derjenigen, deren Achsen vom Objektiv erfaßt werden - einander präzise überlagernd zu einem Gesamtbild zusammen. (Eine genaue geometrisch-optische Erklärung enthält die zitierte Arbeit von Franceschini).

Die tiefe Pseudopupille eines f_3-Tiers ist in der Abbildung 25b fotographiert. Erwartungsgemäß erweist sich auch hier das zentrale Rhabdomer als nicht vorhanden, und in der unscharfen Wiedergabe der sechs peripheren Lichtleiterelemente spiegelt sich offensichtlich deren regellos asymmetrische Anordnung, wie sie in den elektronenmikroskopischen Aufnahmen (Abb. 18) deutlich hervorgetreten war. Ganz ähnliche Bilder habe ich bei den Mutanten a_{27}, a_{32}, b_8, i_3 und f_1 erhalten, während die Stämme $a_{\ }$, a_4, l_5 und m_2 eine normale Pseudopupille aufweisen. Die Mutante a_{31} schließlich zeigt eine merkwürdige Erscheinung: Fliegen dieses Genotyps sind zwar, prüft man die Beschaffenheit ihres Rhabdoms an ganz jungen Tieren, unauffällig, doch tritt mit zunehmendem Alter eine Veränderung der Pseudopupille ein, wie man sie im Falle eines mehr oder weniger vollständigen Verschwindens der peripheren Rhabdomere erwarten würde (Abb. 25c). Dasselbe Phänomen haben Harris und Stark (1977) an den im Benzer'schen Laboratorium in großer Zahl isolierten Mutanten "receptor degeneration A" und "B" (rdg A und rdg B) beschrieben, bei denen ein Zerfall der Rezeptorzellen R_1-R_6 elektronenmikroskopisch nachgewiesen ist. Ob es sich bei a_{31} tatsächlich um ein Allel zu rdg A oder rdg B handelt, wurde bisher zu prüfen versäumt. Jedenfalls bestätigen die genannten Beobachtungen der tiefen Pseudopupille eine Einteilung meiner Mutanten in drei oder vier, wahrscheinlich vier Komplementationsgruppen, wie ich sie aufgrund der genetischen Versuche in der Abbildung 15 vorgenommen habe.

Bevor ich zu einer abschließenden Diskussion meiner Arbeit komme, möchte ich die wichtigsten der bisher mitgeteilten Fakten zusammenfassend noch einmal wiederholen; denn daß der Leser diese hat im Auge behalten können, wage ich bei der Masse des Geschriebenen nicht zu hoffen.

Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit hat im wesentlichen methodischen Charakter. Ihr liegt das Ziel zugrunde, Drosophila-Stämme zu finden, bei denen unter dem Einfluß einzelner Gene die Wahrnehmung von UV-Licht oder die Verarbeitung der daraus gewonnenen Information gestört ist. In diesem Sinne wird ein Verfahren zur Gewinnung von Mutanten beschrieben, deren spontane phototaktische Reaktion auf zwei gleichzeitig angebotene monochromatische Lichter der Wellenlänge 481nm (Grünblau) und 368nm (UV) stärker zum Blau-Reiz hin gerichtet ist als beim Wildtyp. Drei methodische Schritte sind zu unterscheiden: 1. die Erzeugung von Mutationen bei Wildtyp-Männchen unter Verwendung von Äthylmethansulfonat; 2. die Durchführung von Kreuzungen mit attached-X-Weibchen, welche es ermöglichen, die Träger induzierter X-chromosomaler Mutationen als Merkmalsträger schnell und sicher zu erfassen; und 3. - der hier neu entwickelte Teil des Verfahrens - die Auslese der speziell erwünschten "Farbreaktions-Mutanten" aus einer großen Zahl normaler oder irgendwie veränderter Fliegen. Letzteres erfolgte mit Hilfe einer auf Götz (1970) zurückgehenden, den Zielen dieser Arbeit entsprechend abgewandelten Wahlapparatur (Abb. 1), nämlich einer an ihren beiden Enden verschiedenfarbig beleuchteten, mechanisch beweglichen Röhrenanordnung, in welcher die Versuchstiere unter geeigneten Bedingungen, in automatisch hintereinandergeschalteten Verteilungsschritten, ihrer relativen UV-Blau-Tendenz gemäß entweder in Elemente der einen oder anderen Hälfte des Apparats befördert werden (Abb. 2 und 3). Als günstig erwies sich dabei die Verwendung von Testlichtern

hoher Blau- und relativ niedriger, gerade noch 80% der Wildtypfliegen anlockender UV-Intensität (Verhältnis ca. 250:1; Abb. 5). Auf solche Weise ist es - wenn auch erst in der Abfolge mehrerer, hintereinandergestaffelter Versuche - möglich gewesen, Fliegen unterschiedlicher Reaktionstendenz wirksam voneinander zu trennen, d.h. einzelne Tiere, die weniger dem UV-Licht den Vorzug gaben als die Masse der übrigen, auszusondern ("Isolierung" anscheinend abnormer Individuen). Dieselbe Versuchsanordnung konnte aber auch dazu benutzt werden, das Verteilungsverhalten von Gruppen gleichartiger Fliegen i UV-Blau-Test reproduzierbar zu erfassen und quantitativ z bewerten; an den Nachkommen der als Mutanten zunächst nur verdächtigten isolierten Einzeltiere ließ sich daher zuverlässig prüfen, ob genetisch stabile Anomalien der phototaktischen Reaktion tatsächlich vorlagen oder nicht und um Veränderungen welchen Ausmaßes es sich jeweils handelte ("Identifizierung" abnormer Stämme).
Das beschriebene Verfahren lieferte - aus einer Gesamtheit von 17353 Versuchstieren - eine verhältnismäßig große Anzahl gesichert abnormer Stämme der gesuchten Art (Tab. 9b); es können hinsichtlich des Verteilungsverhaltens grob drei Typen unterschieden werden: Erstens traten mindestens 15 Stämme auf, bei denen die UV-Reaktion zwar stets dominierte, dies jedoch anscheinend in geringerem Maße als in Kontrollversuchen mit Wildtypfliegen (Typ 1). Ob solche Abweichungen des Verteilungsverhaltens überhaupt aus Anderungen der Lichtreaktion resultieren oder rein lokomotorisch, durch eine Andersartigkeit des bloßen Bewegungsablaufs bedingt sind, ließ sich allerdings aufgrund der Versuche im Phototaxisapparat bei der Mehrzahl der Fälle nicht mit Sicherheit entscheiden; auch eine allgemeine Schwächung der phototaktischen Reaktivität, die in keiner Beziehung zu den Unterschieden der zur Wahl gestellten Testreize steht, ist als mögliche Erklärung der Ergebnisse selten ganz auszuschließen. Dagegen erwiesen sich die vier Vertreter des zweiten Typs, indem hier die Versuchstiere dem blauen Testlicht - teilweise oder sogar überwiegend - den Vorzug gaben, als in

ihrer "Farbreaktion" tatsächlich anomal. Das gilt in besonders ausgeprägter Weise auch für die neun Stämme des dritten Typs, bei denen eine UV-Tendenz unter den angewendeten Versuchsbedingungen praktisch nicht mehr festzustellen war.

Ein beachtliches Spektrum von Reaktionstypen mit relativer Schwächung des UV-Beitrags zur Phototaxis hat also in befriedigender Ausbeute gefunden werden können. Doch bildet der - trotz Automatisierung - nicht gerade geringe Arbeitsaufwand der Versuche einen Nachteil des Verfahrens, welcher zu dessen möglichst rationeller Durchführung zwingt. Daher wurde in einer Diskussion der Methode nach Kriterien ihrer Effektivität gesucht, d.h. nach einer Beurteilungsgrundlage für das Verhältnis zwischen dem Ertrag an Mutanten und dem Aufwand der zu ihrer Gewinnung notwendigen Schritte. Dies geschah mit dem Ziel, Möglichkeiten und Grenzen einer effizienten Nutzung des hier vorgestellten Verfahrens nachträglich wenigstens aufzuzeigen. In einem anspruchsvolleren Sinne läßt sich die Leistungsfähigkeit der beschriebenen Methode freilich erst beurteilen, wenn feststeht, ob und in welchem Umfang diese zur Entdeckung bisher unbekannter Mutanten mit verhaltensgenetisch interessanten Eigenschaften verholfen hat; eine genetische und neurobiologische Charakterisierung der gefundenen abnormen Stämme sollte also zumindest in groben Umrissen zustande gekommen sein. Statt dessen konnten nur wenige Untersuchungsergebnisse vorgelegt werden.

Eine vorläufige genetische Charakterisierung auf der Grundlage von Kreuzungsanalysen ergab, daß es sich bei den Stämmen der Typen 2 und 3 - wie auch zu erwarten war - um Mutanten mit einer Mutation auf dem X-Chromosom handelte. Für die Vertreter des Typs 1, die wegen ihrer relativ geringen Abweichungen vom Normalverhalten schwieriger zu prüfen sind, gilt größtenteils wahrscheinlich, aber im Einzelfall nicht hinreichend sicher, das gleiche. Komplementationstests ließen dann bei den 13 stärker abnormen Mutanten der Reaktionstypen 2 und 3 auf höchstens vier, wahrscheinlich gerade vier Komplementationsgruppen schließen, d.h. auf die Zugehörig-

keit zu nur vier verschiedenen Genorten (Abb. 15). Nicht überraschend, sondern in Übereinstimmung mit gewissen Folgerungen, die sich aus der zu erwartenden relativen Häufigkeit der einzelnen Reaktionstypen ergeben, ist eines der beiden Gene, welche die Merkmalsveränderung extrem verminderter UV-Tendenz kontrollieren (Typ 3), relativ oft, nämlich sieben- oder achtmal vertreten (f_3-Gruppe, s. Abb. 15). Offensichtlich werden diese Mutanten von dem angewendeten Verfahren besonders gut erfaßt; sie entsprechen überhaupt in jeder Hinsicht dem, was man sich von der Arbeit mit dem Phototaxisapparat erhofft hatte. Ein erst später durchgeführter Kreuzungstest brachte allerdings zutage, daß die Stämme der f_3-Gruppe mit der von Harris, Stark und Walker (1976) zuerst beschriebenen, inzwischen recht gut untersuchten Mutante "sevenless" komplementieren, also lediglich neue Allele eines bereits bekannten Gens gefunden worden sind.

Anatomische Beobachtungen beschränkten sich in der Hauptsache auf die Mutanten der genannten f_3-Gruppe und stimmten im wesentlichen mit den an "sevenless" bereits erhobenen Befunden überein: bei allen sieben noch verfügbaren Stämmen wurde in Untersuchungen der tiefen Pseudopupille (einer lichtmikroskopisch-optischen Abbildung der distalen Rhabdomerenenden der Photorezeptoren des Dipterenauges) das Fehlen des zentralen Lichtleiters der 7. Sehzelle festgestellt (Abb. 25b), und elektronenmikroskopische Bilder von Serienschnitten durch das Auge einer f_3-Fliege ergaben keinen Hinweis auf das Vorhandensein der 7. Zelle überhaupt (Abbildung 18). Außer diesem funktionell schwerwiegenden anatomischen Defekt im distalen Bereich des Rhabdoms (zur Normalstruktur siehe Abb. 16) wiesen f_3-Tiere auch proximal Anomalien auf (Abb. 21-23), denen zwar vermutlich nur untergeordnete Bedeutung zukommt, die aber bei einer sinnesphysiologischen Analyse der Mutante - und ähnliches gilt für "sevenless" selbst - nicht unbeachtet bleiben sollten.- Beobachtungen der tiefen Pseudopupille an den Stämmen des Reaktionstyps 2 ließen keine Abweichungen vom Normalen er-

kennen. Dagegen zeigte sich bei dem einzigen nicht zur f_3-Gruppe gehörenden Stamm des Typs 3 - a_{31} - ein Phänomen (Abb. 25c), wie es für - ebenfalls X-chromosomale - Mutanten mit Degeneration der Sehzellen 1-6 (rdg A und rdg B) von Harris, Stark und Walker (1976) beschrieben worden ist. Eine Prüfung der genetischen Beziehungen steht hier noch aus.

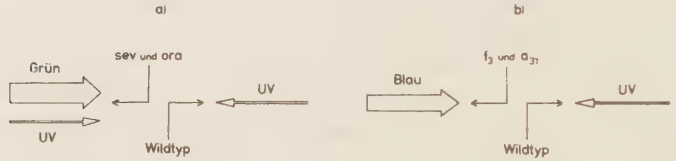
Abschließende Diskussion

Nach den Experimenten von Harris, Stark und Walker (1976) hat die bei "sevenless" fehlende 7. Sehzelle normalerweise die Funktion eines im Bereich mittlerer und höherer Intensitäten reizbaren UV-Rezeptors mit starkem Einfluß auf die Phototaxis. Ein Auftreten von sevenless-Allelen unter den von mir erhaltenen Mutanten wäre also geradezu zu erwarten gewesen; ihre Entdeckung entspricht jedenfalls dem eingangs genannten Ziel dieser Arbeit vollauf, kommt freilich um einiges zu spät. So mag denn die Gewinnung einer ganzen Serie von sevenless-Allelen - falls diese nicht anderweitig von Nutzen sein sollten - lediglich dazu dienen, die hohe Selektivität der hier angewendeten Methode für Mutanten mit schwerwiegendem Defekt in der Wahrnehmung von UV-Licht unter Beweis zu stellen. Demgegenüber verhält sich sevenless im Benzer'schen Hell-Dunkel-Test nur wenig anders als der Wildtyp und ist dort infolgedessen - unter einer im Lauf der Jahre gewiß sehr großen Anzahl von Versuchstieren - bisher auch nur ein einziges Mal gefunden worden.
Auch die Mutante a_{31} wiederholt vermutlich nur inzwischen schon Bekanntes. Um das erörtern zu können, muß ich kurz über die von Heisenberg und Buchner 1977 beschriebenen Phototaxisexperimente berichten, welche den meinen in mancher Hinsicht sehr ähneln, ohne allerdings der Gewinnung von Mutanten gedient zu haben. Die genannten Autoren verwendeten eine aus zwei miteinander verbundenen Kammern bestehende

Apparatur, in der mehrere Versuchstiere gleichzeitig ebenfalls zwischen zwei Testlichtern verschiedener, wohldefinierter spektraler Zusammensetzung zu wählen hatten. Es steht dabei aber einem UV-Licht (360nm) variabler Intensität in der einen Kammer ein Mischlicht in der anderen gegenüber, das genau den gleichen, also variablen UV-Reiz noch einmal anbietet, dazu jedoch ein grünes Testlicht (550nm) ziemlich hoher, konstanter Intensität. In dieser interessanten Versuchsanordnung bevorzugten Wildtypfliegen den Mischreiz, solange die UV-Intensität auf beiden Seiten relativ gering war. Überstieg dieselbe aber einen gewissen Betrag von etwa einem Tausendstel der Grün-Intensität, dann wurde eine Reaktionsumkehr zum reinen UV-Reiz hin beobachtet. Letzteres dürfte im Prinzip - trotz wichtiger, weiter unten diskutierter Unterschiede in der Reizsituation - dem phototaktischen Normalverhalten der Fliegen unter den von mir angewendeten Versuchsbedingungen entsprechen (Abb. 26, vergl. auch Abb. 5). Heisenberg und Buchner fanden nun außerdem, daß die für den Wildtyp charakteristische intensitätsabhängige UV-Präferenz nicht nur bei sevenless ausbleibt, sondern auch bei Fliegen des von Koenig und Merriam (1977) isolierten Stamms "outer rhabdomers absent" (ora), einer Mutante, welcher infolge einer Mutation auf dem III. Chromosom die Licht absorbierenden Strukturen der sechs peripheren Sinneszellen fehlen (Abb. 26). Damit ist die in der vorliegenden Arbeit beschriebene extrem abnorme UV-Blau-Reaktion von Versuchstieren der f_3-Gruppe bereits eindeutig gezeigt, diejenige des Stamms a_{31} nahegelegt. Ob letztere Mutante nun tatsächlich ein Allel zu rdg B darstellt - was ich annehme - oder nicht, dürfte dabei weniger von Bedeutung sein. Im übrigen werten die zitierten Autoren ihre Befunde zwar nicht als Beweis, aber doch als mögliches Anzeichen für die Richtigkeit der von Schümperli (1973) vertretenen (von ihm ebenfalls nicht ausreichend belegten) Vorstellung, daß die spontane phototaktische Bevorzugung von UV-Licht mittlerer und höherer Intensität bei Drosophila auf der Fähigkeit zur "Farbunterscheidung" beruht, d.h. auf wellenlängenspezifi-

Abbildung 26

Schematische Gegenüberstellung von Reizsituation und Reaktionstendenz in dem von Heisenberg und Buchner (1977) beschriebenen Phototaxisexperiment (a) einerseits und im UV-Blau-Versuch mit der Wulf'schen Phototaxisapparatur (b) andererseits



Die Unterschiede im Durchmesser der Pfeile symbolisieren die Intensitätsverhältnisse der Testlichter, gewinkelte Pfeile die Vorzugsrichtung der phototaktischen Reaktion.

scher Verarbeitung der durch zwei Rezeptorsysteme unterschiedlicher spektraler Empfindlichkeit (R_{1-6} und $R_{7/8}$) aufgenommenen Reize. So jedenfalls wäre leicht verständlich, warum die Wildtypfliegen zu dem - bei Heisenberg und Buchner - auf Rezeptorebene unbezweifelbar weniger hellen reinen UV-Licht hinlaufen, während die Mutante "ora", obwohl sie im Besitz der 7. Sehzelle, des für die Reaktion entscheidend wichtigen UV-Rezeptors ist, das nicht tut; der Wildtyp würde eben dem UV-Reiz aufgrund dessen Farbqualität den Vorzug geben, die Mutante dagegen, dieser Möglichkeit wegen des fehlenden Rezeptorsystems R_{1-6} beraubt, allein auf Helligkeitsunterschiede reagieren und daher dem wesentlich intensiveren Mischlicht zuneigen. - Aus ähnlichen Gründen können auch die entsprechenden Ergebnisse der Versuche im Wulf'schen Phototaxisapparat durch eine "Farbuntüchtigkeit" der Mutante a_{31} gedeutet werden. Deren Erscheinen unter den von mir gefundenen Stämmen würde dann ebensowenig überraschen wie dasjenige von Trägern weiterer sevenless-Allele. Eher noch könnte man fragen, aus welchem Grund nur ein einziges Exemplar dieser Komplementationsgruppe sich hat entdecken lassen. Teilweise

ist daran zweifellos die erheblich verminderte Beweglichkeit schuld, welche die Fliegen des Stamms a_{31} im Phototaxisversuch an den Tag legen (vergl. Tab. 17b, letzte Spalte), vielleicht aber auch die Existenz von nur relativ wenigen Allelen mit durchschlagender, die Rezeptoren 1-6 vollständig ausschaltender Wirkung. Letzteres würde dem entsprechen, was bei den Mutanten rdg A und rdg B tatsächlich der Fall ist (Harris und Stark, 1977).
Ob schließlich mit den Stämmen der Typen 1 und 2 Neues entdeckt worden ist, muß vorerst offen bleiben. Sicherlich wäre es gut gewesen, gerade diese Mutanten eingehender zu untersuchen; sie erschienen mir aber als die weniger spezifischen, was ja auch durchaus zutreffen mag. Sollten sich die genannte Stämme jedoch als interessant erweisen und wäre daran gelegen, noch weitere derartige Mutanten zu finden, dann könnte das unter entsprechend veränderten Selektionsbedingungen - wie in der Diskussion des ersten Teils erörtert - gezielter und infolgedessen mit größerer Ausbeute geschehen als in der vorliegenden Arbeit. - Darüber hinaus ist auch die planmäßige Gewinnung von Stämmen mit ganz andersartigen Defekten der "Farbreaktion" vorstellbar, wenn nur die Versuchsanordnung in geeigneter, wohlüberlegter Weise abgeändert wird. Ich denke unter anderem an Mutanten mit verminderter Blau-Tendenz, die sich ebenfalls - unter bestimmten Bedingungen - vom Wildtyp müßten trennen lassen. Warum sollte es z.B. nicht grundsätzlich möglich sein, auf diese Weise die Liste der für Rezeptoranomalien verantwortlichen Gene eines Tages um ein "eightless" zu bereichern? [1]
Mag auch die Idee, in einer Wahlapparatur mit verschiedenfarbigen Reizlichtern nach neuen Phototaxismutanten zu suchen, bisher nicht als wahrhaft fruchtbar ausgewiesen werden können, in Zukunft, glaube ich, dürften hier noch Entdeckungen zu machen sein. -
Wie bereits in der Einleitung des ersten Teils erwähnt, kam der Anstoß zu Versuchen im Wulf'schen Phototaxisapparat von

[1] Der Rezeptor R_8 ist für einen Teil der Blau-Reaktion verantwortlich.

dem Gedanken, die damals noch unentschiedene Frage, ob Fliegen "Farben sehen", d.h. zu unterscheiden vermögen, oder nicht, durch Mutanten klären zu helfen. Inzwischen haben nun Konditionierungsexperimente (Menne und Spatz, 1977) unzweideutig ergeben, daß Drosophila zur Farbunterscheidung fähig ist. Einen derartigen Schluß zu ziehen, übersteigt natürlich die Aussagekraft der in dieser Arbeit verwendeten Mittel: die in der Wulf'schen Phototaxisapparatur unter den Bedingungen des UV-Blau-Versuchs festgestellte Bevorzugung des physikalisch weniger hellen UV-Lichts durch den Wildtyp kann zwar auf einem Farbunterscheidungsvermögen und die Umkehr der Reaktionstendenz bei gewissen Mutanten auf dessen Verlust beruhen, muß es aber nicht; wenn auch das Verteilungsverhalten normaler Fliegen einerseits und bestimmter abnormer Stämme andererseits rein beschreibend durchaus als "wellenlängenselektiv" bezeichnet werden darf (nämlich in der schlichten Bedeutung von: die Versuchstiere betragen sich in einer Weise, als würden sie zwischen Lichtern verschiedener "Farbe" wählen), so ist es doch damit nicht notwendigerweise "wellenlängenspezifisch" in einem erklärenden, auf Farbensehen hindeutenden Sinne. Denn beide phototaktischen Präferenzen lassen sich stets auch auf der Grundlage eines einfachen, lediglich zur Intensitätsunterscheidung befähigten, nach subjektiven Helligkeiten wertenden Sehsystems verstehen, wobei sogar noch offen bleibt, ob am Zustandekommen der Reaktion nur ein einziger Rezeptortyp beteiligt ist (dessen spektrale Empfindlichkeit bei den Mutanten verändert wäre) oder mehrere Typen gleichzeitig (von denen Mutationen dann einen geschwächt oder ausgeschaltet hätten).- Aufschlußreichere Ergebnisse liefert zweifellos die oben kurz beschriebene Versuchsanordnung von Heisenberg und Buchner. Das von den Wildtypfliegen bevorzugte reine UV-Licht der einen Seite kann hier, weil es im Mischlicht der anderen Seite enthalten ist, das subjektiv hellere so ohne weiteres, aufgrund der spektralen Empfindlichkeit der beteiligten Rezeptoren, nicht sein; vielmehr muß der phototaktischen Reaktion eine Wechselwirkung zwischen Rezeptoren verschiedenen

Typs vorausgehen. Ob freilich solche Interaktionen nicht nur in peripheren Hemmungen bestehen, sondern eine echte wellenlängenspezifische Verarbeitung ermöglichen, d.h. aufgrund eines Erregungsvergleichs zur Analyse der Farbqualität des Lichtreizes führen, dürfte wohl nicht zu entscheiden sein. Hier bringen auch Mutanten letztlich keinen Aufschluß, jedenfalls nicht Mutanten wie sevenless und ora. So erweist sich die Meinung, durch Gewinnung von Drosophila-Stämmen mit veränderter "wellenlängenselektiver" Phototaxis käme man der Lösung des Farbensehen-Problems bei Fliegen unmittelbar näher, eher als ein Mißverständnis. Daß Fliegen, inzwischen nachgewiesenermaßen, Farben zu unterscheiden vermögen und Tests zur Prüfung dieser Fähigkeit vorhanden sind, bildet vielmehr die Voraussetzung dafür, die von Benzer eingeführte verhaltensgenetische Methode auch der Untersuchung der Frage nutzbar zu machen, wie Farbensehen möglich ist.

Um in diesem Sinne, auf längere Sicht, Wesentliches beizutragen, wäre es vor allem wichtig, solche Mutanten zu finden und zu analysieren, die sich statt durch Defekte peripherer Sinnesstrukturen durch wellenlängenspezifische zentrale Störungen auszeichnen. Derartige Mutanten sollten mit Hilfe des hier angewendeten Verfahrens grundsätzlich ebenso erfaßbar sein wie die Stämme f_3 und a_{31}, vorausgesetzt, die unverhältnismäßig hohe Attraktivität von UV-Licht nicht zu geringer Intensität bei Wildtypfliegen ist tatsächlich ein Kriterium für Farbensehen. Spezifischere Tests, welche insbesondere die Auslese abnorm beweglicher und phototaktisch schwacher Tiere ganz ausschließen, wären andererseits natürlich schon wünschenswert und darüber hinaus auch Methoden, deren Selektivität für echte Farbensehen-Mutanten größer oder zumindest qualitativ anders ist als diejenige des UV-Blau-Versuchs im Wulf'schen Phototaxisapparat. Vielleicht würde, was letzteres betrifft, eine Reizalternative, wie sie Heisenberg und Buchner beschrieben haben, bereits weiterhelfen. (Allerdings scheint es mir nicht undenkbar, daß diese aus der Perspektive des Experimentierenden zweifellos informativere Reizsituation den Fliegen selbst imgrunde gar nichts

Neues bietet.) Letzten Endes aussichtreicher mag es sein, Versuchsanordnungen, welche der Prüfung des Farbunterscheidungsvermögens wirklich adäquat sind, z.B. die von Menne und Spatz erfolgreich benutzte, den Anforderungen eines auf Gewinnung von Verhaltensmutanten ausgerichteten, der Bewältigung großer Fliegenzahlen gewachsenen Verfahrens anzupassen. Hier müssen die guten Ideen erst noch kommen.

Literaturverzeichnis

Benzer, S.: Behavioral mutants of Drosophila, isolated by countercurrent distribution. Proc. Natn. Acad. Sci. USA 58, 1112-1119 (1967).

Bertholf, L. M.: The extent of the spectrum for Drosophila and the distribution of stimulative efficiency in it. Z. vergl. Physiol. 18, 32-64 (1932).

Campos-Ortega, J. A.; G. Jürgens, A. Hofbauer: Cell clones and pattern formation: studies on sevenless, a mutant of Drosophila melanogaster. Wilhelm Roux's Archives 186, 27-50 (1979).

Cosens, D.; M. M. Perry: The fine structure of the eye of a visual mutant, A-type, of Drosophila melanogaster. J. Insect Physiol. 18, 1773-1786 (1972).

Dürrwächter, G: Untersuchungen über Phototaxis und Geotaxis einiger Drosophila-Mutanten nach Aufzucht in verschiedenen Lebensbedingungen. Z. Tierpsych. 14, 1-28 (1957).

Franceschini, N.: Sampling of the visual environment by the compound eye of the fly: fundamentals and applications. In: Photoreceptor Optics (Herg. A. W. Snyder, R. Menzel), Springer Verlag, Berlin etc. (1975).

Götz, K. G.: Fractionation of Drosophila populations according to optomotor traits. J. Exp. Biol. 52, 419- 436 (1970).

Hall, J. C.; R. J. Greenspan: Genetic analysis of Drosophila neurobiology. Ann. Rev. Genet. 13, 127-195 (1979).

Hardeland, R.; G. Stange: Einflüsse von Geschlecht und Alter auf die lokomotorische Aktivität von Drosophila. J. Insect Physiol. 17, 427-434 (1971).

Harris, W. A.; W. S. Stark: Hereditary retinal degeneration in Drosophila melanogaster. A mutant defect associated with the phototransduction process. J. Gen. Physiol. 69, 261-292 (1977).

Harris, W. A.; W. S. Stark, J. A. Walker: Genetic dissection of the photoreceptor system in the compound eye of Drosophila melanogaster. J. Physiol. 256, 415-439 (1976).

Heisenberg, M.: Isolation of mutants lacking the optomotor

response. Dros. Inf. Serv. 46, 68 (1971).

-- Comparative behavioral studies on two visual mutants of Drosophila. J. Comp. Physiol. 80, 119-136 (1972).

-- Isolation of autosomal mutants with defects in the optomotor response. Dros. Inf. Serv. 51, 64 (1974).

Heisenberg, M.; E. Buchner: The role of retinula cell types in visual behaviour of Drosophila melanogaster. J. Comp. Physiol. 117, 127-162 (1977).

Heisenberg, M.; K. G. Götz: The use of mutations for the partial degradation of vision in Drosophila melanogaster. J. Comp. Physiol. 98, 217-241 (1975).

Hotta, Y.; S. Benzer: Genetic dissection of the Drosophil nervous system by means of mosaics. Proc. Natn. Acad. Sci. USA 67, 1156-1163 (1970).

Lee, W. R.: Chemical mutagenesis. In: The Genetics and Biology of Drosophila (Herg. M. Ashburner, E. Novitski), Acad. Press, N. Y., Band 1c (1976).

Lee, W. R.; G. A. Sega, J. B. Bishop: Chemically induced mutations observed as mosaics in Drosophila melanogaster. Mutation Res. 9, 323-336 (1970).

Lewis, E. B.; F. Bacher: Method of feeding ethyl methane sulfonate (EMS) to Drosophila melanogaster. Dros. Inf. Serv. 43, 193 (1968).

Koenig, J.; J. R. Merriam: Autosomal ERG mutants. Dros. Inf. Serv. 52, 50-51 (1977).

Menne, D.; H.-C. Spatz: Colour vision in Drosophila melanogaster. J. Comp. Physiol. 114, 301-312 (1977).

Pak, W. L.: Mutants affecting the vision of Drosophila melanogaster. In: Handbook of Genetics (Herg. R. C. King), Plenum Publishing Co., N. Y., Band 3 (1975).

Pak, W. L.; J. Grossfield, N. V. White: Nonphototactic mutants in a study of vision in Drosophila. Nature 222, 351-354 (1969).

Ribi, W. A.: First optic ganglion of the bee II. Cell Tiss. Res. 171, 359-373 (1976).

Schümperli, R.: Evidence for colour vision in Drosophila melanogaster through spontaneous phototactic choice

behaviour. J. Comp. Physiol. 86, 77-94 (1973).

Seitz, G.: Bau und Funktion des Komplexauges der Schmeißfliege. Naturwiss. 58, 258-265 (1971).

Stark, W. S.: Spectral sensitivity of visual response alterations mediated by interconversions of native and intermediate photopigments in Drosophila. J. Comp. Physiol. 96, 343-356 (1975).

-- Sensitivity and adaptation in R_7, an UV photoreceptor, in Drosophila melanogaster. J. Comp. Physiol. 115, 47-59 (1977).

Trujillo-Cenoz, O.; J. Melamed: Electron microscope observations on the peripheral and intermediate retinas of diptereans. In: Wenner-Gren Center International Symposium Series, Vol. 7: The Functional Organisation of the Compound Eye (Herg. C. G. Bernhard), Pergamon Press, London etc. (1966).

Wulf, V.: Methode zur Isolierung von Drosophilamutanten mit Störungen im Farbensehen. Dipl. Arbeit, Ludw. Max. Universität, München (1974).

Lebenslauf

Ich bin am 9. 12. 1944 in Schneidemühl (heute Piła) geboren und (seit 1946) in Köln, dem Geburtsort meines Vaters aufgewachsen. Hier besuchte ich die Volksschule und das Humanistische Gymnasium. Anschließend (1964) begann ich in Göttingen mit dem Studium der Biologie und setzte dieses (1966) an der Münchner Ludwig-Maximilians-Universität fort, wo ich das Vordiplom ablegte. Die Diplomarbeit (mit dem Thema: Ein Versuch zur Gewinnung von Mutanten mit verändertem chemotaktischen Verhalten bei Drosophila melanogaster) wurde 1969 am Zoologischen Institut unter Leitung von Herrn Professor Becker in Angriff genommen; 1972 bestand ich die Diplomprüfung. Ein Versuch, die Fragestellung der Diplomarbeit mit neuen Methoden weiterzuverfolgen, mußte nach zwei Jahren erfolglos abgebrochen werden. Seitdem bin ich, unterstützt von Herrn Professor Becker und Herrn Professor Autrum, mit der jetzt vorliegenden Promotionsarbeit beschäftigt gewesen. Von 1974 - 1979 war ich als Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten am Zoologischen Institut angestellt. Vor drei Jahren habe ich geheiratet.